Anno IX - Nuova Serie Ottobre-Dicembre 1929 (VIII) — N. 4

BOLLETTINO
DELLA R. STAZIONE DI PATOLOGIA VEGETALE

Esperienze sulla formazione del sughero delle ferite

Sono ben note a tutti gli studiosi di fisiologia vegetale ed ai fitopatologi le esperienze dell' Haberlandt dirette a dimostrare l' attendibilità di un' ipotesi, già formulata dal Wiesner, che attribuisce la formazione di cellule suberose nei tessuti vegetali in seguito a ferite all'azione stimolatrice di sostanze che derivano dalle cellule uccise o comunque danneggiate dal trauma. Queste sostanze, delle quali sino ad ora non si conosce quasi alcuna proprietà fisica e chimica, sono state chiamate dallo stesso Haberlandt *ormoni delle ferite* (*Wundhormone*), ritenendole simili agli ormoni che negli organismi animali sono originati dagli organi a secrezione interna.

Per quanto sia facilmente ammissibile che anche nelle piante si formino sostanze analoghe agli ormoni dei metazoi, dalla cui azione specifica dipendano molte correlazioni dello sviluppo ontogenetico (1), non è sicuramente stabilito che lo stimolo traumatico si esplichi nelle piante mediante l' azione specifica di sostanze paragonabili agli ormoni.

Le nozioni che si hanno intorno a un simile argomento sono ancora molto incomplete e sarebbe certamente prematuro ritenere ormai come definitivamente dimostrata la concezione così genialmente sostenuta dall' Haberlandt e dalla sua scuola.

(1) Una dimostrazione sperimentale della esistenza nelle piante di sostanze paragonabili agli ormoni è stata data dal Fitting sino dal 1909 (« Zeitschr. f. Bot. » I, « Biol. Zentrbl. » XXIX) e dall' Haberlandt (« Sitzungsber. Akad. Wiss. » Berlin, 1913).

Le ricerche sulla genesi e la natura dello stimolo traumatico sono anche rese più difficili dall'intervento dei microrganismi che comunemente inquinano la superficie delle ferite e che devono spesso esser considerati fra i fattori attivi capaci di intensificare, attenuare o sostituire persino l'azione stimolante che si origina nel punto della ferita e da questo si propaga nelle cellule capaci di reagire.

Nella presente memoria sono descritte alcune ricerche da me eseguite sopra la formazione del sughero delle ferite ripetendo in parte le esperienze dell'Haberlandt, ma variando però in diversi modi le condizioni sperimentali.

*
* *

Le esperienze sono state compiute su foglie di *Echeveria secunda* Baker e su tuberi di patata. Le prime, come ha mostrato Haberlandt (1), si prestano molto bene, similmente alle foglie di altre Crassulacee, all'esecuzione di ferite senza che ne consegua la morte delle cellule del mesofillo, giacchè la rottura della foglia in due metà longitudinali può avvenire per separazione delle cellule secondo i meati intercellulari e lungo la lamella mediana. Solo le cellule epidermiche restano uccise sul piano di frattura, ma queste lesioni sono di così piccola entità che il mesofillo non reagisce con formazione di sughero, mentre questo si forma se la foglia è divisa in due metà dal taglio di un rasoio o se sopra la superficie di frattura è deposta della poltiglia di tessuti fogliari della stessa pianta. Questi risultati delle esperienze di Haberlandt sono stati interpretati come una prova indiretta che la sostanza, la quale eccita la formazione del sughero, deriva dalle cellule morenti o già morte in seguito alla ferita.

---

(1) Haberlandt G., in « Sitzungsber. d. preuss. Akad. d. Wiss. », XVI, 1913, p. 318; Ibidem, XLVI, 1914, p. 1096. « Beiträge z. allg. Bot. » II, 1921, p. 1. « Biol. Zentralbl. » XLII, 1922, XLV, 1929. Kotte W., *Methoden z. Nachw. pflanzlichen Wundhormone*, « Handb. d. biol. Arbeitsmethoden ». Abt. XI, Teil 4 Heft 1, 1929.

I tuberi di patata, che formano facilmente del sughero in seguito a traumi, sono stati adoperati per determinare l'influenza di alcune particolari condizioni della superficie della ferita sopra l'originarsi delle cellule a pareti suberificate.

Esperienze su foglie di Echeveria. — Dovendosi svolgere alcune esperienze su foglie di *Echeveria* in ambiente sterile, per rendere comparabili i risultati delle diverse esperienze, tutte le foglie adoperate vennero prima disinfettate esternamente mediante l' apparecchio rappresentato nella fig. 1, previamente sterilizzato a 100° C. nella stufa di Koch.

Nel recipiente superiore si versa la soluzione antisettica (*Uspulun* al 0,2 °/$_0$) mentre nel recipiente inferiore si pongono le foglie di *Echeveria.* Si possono così sottoporre a una disinfezione della superficie esterna per 1 o 2 minuti e quindi si possono lavare ripetutamente in acqua bollita che viene versata rapida-

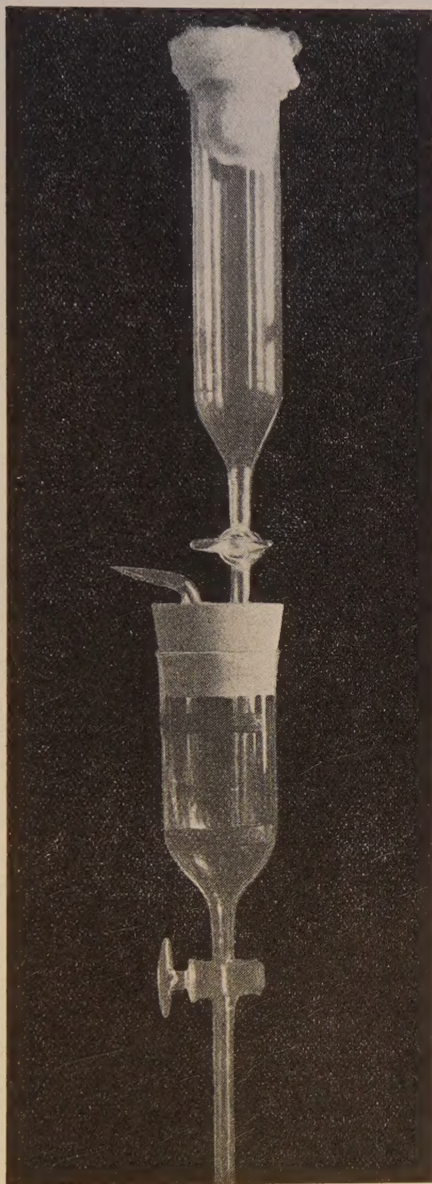


Fig. 1. — Dispositivo per sterilizzare esternamente le foglie o i tuberi. (1/6 dal vero).

mente, due o più volte, nel recipiente superiore. Con una pinzetta sterilizzata alla fiamma le singole foglie si pongono in altrettante scatole Petri, previamente sterilizzate e provviste internamente di carta da filtro umida. Con un rasoio sterilizzato alla fiamma si dividono le singole foglie in due metà longitudinali sollevando alquanto il coperchio di ogni scatola.

Molto più difficile riesce la separazione schizogena e asettica delle due metà di ciascuna foglia. Per eseguire questa operazione le foglie, sterilizzate esternamente, sono state poste egualmente in scatole Petri praticandovi con un bisturì sterilizzato alla fiamma una piccola incisione nella regione apicale; quindi la separazione delle due metà è stata eseguita rapidamente con le dita disinfettate previamente con sublimato corrosivo o con *Uspulun.* Operando in ambiente povero di germi di microrganismi, dopo alcune prove preliminari, si può pervenire ad ottenere in modo asettico la separazione schizogena delle due metà di una foglia.

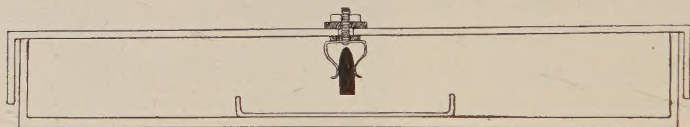


Fig. 2. — Dispositivo per tener sospesa verticalmente una metà di foglia in camera umida sterile.

Per alcune esperienze è stato necessario tener sospesa la metà della foglia sopra il fondo della scatola di Petri. A questo scopo sono stati adoperati dei coperchi ordinari di vetro provvisti al centro di una pinza metallica come mostra la fig. 2.

Tutte le scatole contenenti le porzioni di foglie variamente trattate vennero tenute esposte alla luce diffusa del giorno alla temperatura di 15–17° C.

Le diverse condizioni sperimentali realizzate, il loro scopo ed i risultati ottenuti possono esser riassunti come segue:

I. — Foglie sterilizzate esternamente, con ferita schizogenica, asciutta. Scopo dell' esperienza era di constatare

se vi fosse formazione di sughero o di callo. *Risultati* : al 5° giorno non si era divisa alcuna cellula del mesofillo al disotto della superficie di rottura, qualche cellula situata su questa superficie presentava un leggero accrescimento dal lato libero (accenno alla formazione di callo ; al 10° giorno alcune cellule del 3° e 4° strato dalla superficie di rottura si erano divise con la formazione di una parete parallela alla superficie stessa (inizio del sughero). L' esame microscopico non ha rivelato la presenza di microrganismi sulla superficie della ferita.

II. — Foglie sterilizzate esternamente, con ferita schizogenica, bagnata con la poltiglia di foglie di *Echeveria*, preparata non asetticamente. Scopo dell' esperienza era di constatare se in queste condizioni la foglia formasse del sughero nel mesofillo più rapidamente e più abbondantemente della foglia dell' esperienza precedente. *Risultati* : al 5° giorno si era già iniziata la formazione di cellule a pareti suberificate ; al 10° giorno si erano formati due strati di cellule del sughero. L' esame microscopico ha rivelato la presenza di batteri nella poltiglia di foglie deposte sulla ferita. Le colture eseguite con questo materiale hanno mostrato lo sviluppo di un batterio non sporigeno, riferibile al gruppo del *Bacterium herbicola* e un micelio riferibile al gen. *Ceratophorum* Sacc.

III. — Foglie sterilizzate esternamente, con ferita eseguita asetticamente col rasoio in scatola Petri sterilizzata. Scopo dell' esperienza era di stabilire se la ferita con la uccisione di cellule del mesofillo in assenza di microrganismi provocasse la formazione di sughero. *Risultati* : al 5° giorno si erano già divise le cellule del 2° strato dalla superficie del taglio, al 10° giorno si osservavano due strati di cellule a pareti suberificate. L' esame microscopico non ha rivelato alcuno sviluppo di microrganismi.

IV. — Foglie sterilizzate esternamente, con ferita eseguita col rasoio non asetticamente. Scopo della esperienza era di stabilire se la contaminazione della ferita con microrganismi avesse qualche influenza sulla formazione

del sughero. *Risultati* : al 5° giorno si erano già divise le cellule del 2° e 3° strato dalla superficie del taglio, al 10° giorno erano visibili 3 strati di cellule suberose. Lo esame microscopico rivelò la presenza di batteri sulla superficie della ferita.

V. — Foglie sterilizzate esternamente, con ferita schizogenica asettica, bagnata con la poltiglia di foglie sterilizzate a 120° C. Scopo dell' esperienza era di determinare se l' elevata temperatura modificasse la sostanza o le sostanze che derivano dalla poltiglia dei tessuti fogliari e che stimolano la formazione del sughero. *Risultati* : al 5° giorno si osservava qualche divisione cellulare ; al 10° giorno si era formato uno strato di cellule a pareti suberificate parallelamente alla ferita. L'esame microscopico non ha rivelato la presenza di microrganismi nella poltiglia deposta sulla ferita.

VI. — Foglie sterilizzate esternamente, con ferita schizogenica asettica, bagnata con la poltiglia di foglie sterilizzate a 120° C. e poi infettata coi microrganismi isolati dalla poltiglia fresca. Scopo dell' esperienza era di stabilire se nella eventualità di una mancata azione stimolatrice della formazione del sughero da parte della poltiglia scaldata a 120° C. la presenza dei microrganismi potesse esercitare una simile azione. *Risultati* : al 5° giorno si mostravano alcune cellule in divisione in corrispondenza dei punti della ferita dove non vi era sviluppo di micelio, in corrispondenza a questo era avvenuto nel mesofillo la precipitazione di sostanze tanniche e nessuna traccia di divisioni cellulari si mostrava in questi punti neppure al 10° giorno.

VII. — Foglie sterilizzate esternamente, con ferita schizogenica, ricoperta con la poltiglia di tubero di patata. Scopo dell' esperienza era di stabilire se anche da cellule morte di una pianta diversa dall' *Echeveria* potesse essere esercitata un'azione stimolante sulla formazione del sughero. *Risultati* : al 5° giorno si era già iniziata la formazione di cellule a pareti suberificate e al 10° giorno si erano formati due e in alcuni punti anche tre strati di cellule suberose. Il

risultato ottenuto è quindi identico a quello dell'esperienza II e cioè la poltiglia del tessuto del tubero di patata è attiva come quella delle foglie di *Echeveria*.

VIII. — Foglie sterilizzate esternamente, con ferita prodotta dal rasoio e quindi bagnata con diluizione delle colture dei microrganismi isolati dalla poltiglia di foglie (Cfr. esp. II). Scopo dell' esperienza era di determinare quale influenza avesse sulla formazione del sughero l' azione di un' abbondante quantità di microrganismi. *Risultati* : al 5° giorno, come al 10°, non si era mostrata alcuna cellula in divisione, quindi nessuna formazione di sughero. I microrganismi non erano penetrati nel mesofillo, ma era manifesta l' azione nociva dei prodotti del loro metabolismo sul tessuto fogliare per l' alterazione subìta dalla clorofilla. In due strati cellulari, distanti di 4 o 5 strati dalla superficie della ferita, si era depositato un precipitato di sostanze tanniche.

IX. — Foglie sterilizzate esternamente, con ferita prodotta asetticamente dal rasoio, bagnata con l' estratto acquoso delle colture di microrganismi filtrato attraverso filtro Berkefeld. Scopo dell' esperienza era di stabilire se i soli prodotti del metabolismo dei microrganismi fossero sufficienti ad impedire la formazione del sughero. *Risultati* : al 5° giorno era ben visibile la precipitazione di sostanze tanniche in uno strato cellulare del mesofillo parallelo alla superficie della ferita, al 10° giorno erano avvenute alcune divisioni cellulari al di là dello strato con sostanze tanniche precipitate, ma non si è formata mai una serie continua di cellule a pareti suberificate.

X. — Foglie rimaste attaccate alla pianta a ciascuna delle quali è stata tolta una metà mediante un taglio longitudinale, bagnando poi la ferita con una diluizione delle colture di microrganismi come all' esperienza VI. Scopo dell' esperienza era di stabilire il comportamento della foglia restata unita alla pianta di fronte ai microrganismi e in confronto alla foglia separata dalla pianta (esp. VIII). *Risultati* : l' esame microscopico è stato eseguito all' ottavo

giorno e non venne trovato alcun deposito di sostanze tanniche precipitate, nè alcuna alterazione dei cloroplasti, la formazione di cellule a pareti suberificate era avvenuta regolarmente.

XI. — Foglie immerse in una soluzione di acetato basico di piombo ed ivi tagliate con rasoio ; lavate, dopo 30 secondi, in acqua previamente bollita e quindi poste in scatole di Petri sterilizzate come nelle precedenti esperienze. Scopo della esperienza era di stabilire se precipitando con l' acetato basico di piombo la maggior parte dei costituenti il contenuto delle cellule uccise con la ferita, si formasse egualmente il sughero nel mesofillo. *Risultati* : al 5° giorno non si osservavano ancora delle divisioni cellulari, ma al 10° giorno si era formato uno strato di cellule a pareti suberificate. L' esame microscopico non ha rivelato la presenza di microrganismi sulla superficie della ferita.

XII. — Foglie sterilizzate esternamente, con ferita schizogenica, sospese, alla distanza di 2 mm. sopra uno strato di poltiglia di tessuti fogliari. Scopo dell' esperienza era di ripetere la prova già fatta da Haberlandt, per stabilire se dalla poltiglia emanino radiazioni mitogenetiche secondo la nota opinione del Gurwitch. *Risultati* : al 5° giorno non erano ancor visibili delle divisioni cellulari, al 10° giorno si erano originate alcune cellule a pareti suberificate come nell' esperienza I. L' esame microscopico non ha rivelato la presenza di microrganismi sulla superficie della ferita.

XIII. — Foglie sterilizzate esternamente, con ferita schizogenica, sospese, alla distanza di 2 mm., sopra una diluizione delle colture dei microrganismi isolati dalla poltiglia di tessuti fogliari. Scopo dell' esperienza era di stabilire se dai microrganismi fossero emanate radiazioni mitogenetiche. *Risultati* : come nell' esperienza I e nella precedente.

XIV. — Foglie sterilizzate esternamente, con ferita prodotta asetticamente dal rasoio e bagnata con soluzione di tannino 1 $^{o}/_{o}$. Scopo dell' esperienza era di stabilire se il tannino avesse qualche influenza sulla formazione del

sughero. *Risultati*: al 5° giorno non si notava alcuna divisione cellulare preludente alla formazione del sughero. Questo non si era formato neppure al 10° giorno.

XV. — Foglie sterilizzate esternamente, con ferita prodotta asetticamente dal rasoio, sono poste in ambiente sterile e poverissimo di ossigeno (sottrazione dell' ossigeno effettuata con una soluzione alcalina di acido pirogallico). Scopo dell' esperienza era di stabilire quale influenza abbia sulla formazione del sughero la deficienza o assenza dell' ossigeno. *Risultati*: all' 8° giorno non si era formata alcuna traccia di cellule suberose. Nessuna divisione cellulare era avvenuta. Le cellule del mesofillo erano viventi, i cloroplasti avevano caratteri normali, solo la turgescenza del tessuto era minore di quella delle foglie egualmente tagliate, ma tenute a contatto dell' aria atmosferica.

XVI. — Foglie sterilizzate esternamente, con ferita prodotta asetticamente dal rasoio, sono poste con la superficie del taglio sopra uno strato sottile di burro di cacao fuso o di paraffina molle, in modo che la superficie del taglio si trovi protetta dal contatto dell' aria atmosferica. Scopo dell' esperienza era di sottrarre la sola superficie del taglio al contatto dell' ossigeno atmosferico. *Risultati*: al 6° giorno non si presentava alcuna traccia di divisioni cellulari. Al 10° giorno stesso risultato. Il tessuto era vivente e con turgescenza normale.

XVII. — Come l' esperienza precedente, solo che la superficie del taglio viene chiusa dal mercurio dove le foglie vengono tenute parzialmente immerse. *Risultati*: al 6° giorno non si era formata alcuna divisione cellulare, i protoplasti erano ancora viventi, ma quelli delle cellule vicine alla ferita erano riuniti in grumi. Probabilmente il tessuto aveva risentita l' azione tossica di un qualche composto mercuriale.

XVIII. — Come nell' esp. XIV solo che invece del tannino è stata applicata sulla superficie della ferita dell' acqua ossigenata. *Risultati*: al 5° giorno si erano formati due setti in ogni cellula sottostante alla ferita e al 10° giorno

la formazione del sughero era assai più abbondante che nelle foglie nelle quali la superficie del taglio non aveva ricevuto alcun trattamento. Una diluizione del 0,5 °/₀ di acido solforico esercita pure un' azione stimolante.

*
* *

Le esperienze suesposte hanno dunque dimostrato che nelle foglie di *Echeveria secunda* le ferite, eseguite senza produrre la morte della maggior parte delle cellule poste sulla superficie di rottura, determinano una formazione molto tardiva del sughero e questo non costituisce uno strato continuo, ma si origina solo a spese di alcune cellule. Le ferite prodotte dal taglio del rasoio, producendo la morte di quasi tutte le cellule del mesofillo che si trovano sulla superficie della ferita, provocano una rapida ed abbondante formazione di sughero. Lo stesso risultato si ottiene se sulla superficie delle ferite schizogeniche si depone la poltiglia di foglie preparata non asetticamente o la poltiglia del parenchima di tubero di patata. Non si può attribuire ai batteri e ai funghi che si sviluppano sulla superficie del taglio o su tale poltiglia un' azione specificamente stimolatrice della formazione del sughero perchè la ferita, eseguita col rasoio asetticamente, provoca egualmente l' originarsi di cellule a pareti suberificate e perchè la poltiglia sterilizzata a 120° C. è egualmente attiva per quanto meno di quella non sterilizzata. L'azione dei microrganismi, quando avvenga troppo intensamente, impedisce la formazione del sughero, determinando una depressione dell' attività vitale del mesofillo e anche la morte di molte cellule. L' azione stimolatrice, o per lo meno non inibitoria sulla formazione del sughero da parte dei microrganismi, si rivela in modo evidente quando la foglia ferita è lasciata unita alla pianta. In tal caso il mesofillo trovasi in buone condizioni di resistenza contro i prodotti tossici dei microrganismi. L'azione nociva di questi prodotti è stata dimostrata facendoli agire sulla ferita dopo averli separati dai microrganismi stessi.

Precipitando con acetato basico di piombo i costituenti del contenuto cellulare nel tempo stesso in cui avviene l' esecuzione della ferita, la formazione del sughero è egualmente stimolata nel mesofillo. Nessuno anticipo o accelerazione nelle divisioni cellulari che precedono la formazione del sughero sono stati constatati esponendo la superficie della ferita alle presunte radiazioni mitogenetiche della poltiglia dei tessuti fogliari o della diluizione delle colture di microrganismi isolati dalla poltiglia stessa quando sia conservata non asetticamente.

In ambiente poverissimo di ossigeno non si ha formazione di sughero sulla foglia ferita. Questo stesso risultato si ottiene anche quando si sottrae la sola superficie della ferita al contatto dell' aria atmosferica.

Bagnando con una soluzione di tannino (1 %) la superficie del taglio la formazione del sughero non avviene. Quest' effetto del tannino è dovuto alla sua azione riducente. Le sostanze ad azione ossidante accelerano la formazione del sughero.

Esperienze su tuberi di patata. — Le diverse condizioni sperimentali realizzate, il loro scopo ed i risultati ottenuti sono qui riassunti:

XIX. — Superficie del taglio lavata ripetutamente ad acqua corrente. Scopo dell' esperienza era di stabilire se pur togliendo dalla superficie del taglio ogni traccia del contenuto delle cellule aperte dalla ferita, si formasse egualmente il sughero di cicatrizzazione. *Risultati*: dopo 8 giorni nelle cellule immediatamente poste sotto a quelle uccise erano avvenute divisioni, originandosi così due o tre strati di cellule a pareti suberificate (1). La superficie del taglio non presentava sviluppo di microrganismi.

(1) Questo risultato conferma quanto già era stato constatato da Haberlandt nei tuberi di patata, mentre le condizioni suesposte non stimolano la formazione del sughero nelle fette di radice del cavolo-rapa (*Brassica gongylodes* L.).

XX. — Superficie del taglio non lavata. Scopo della esperienza era di stabilire se si rendesse evidente un'azione stimolatrice, sulla formazione del sughero, da parte dei prodotti che derivano dalle cellule uccise dalla ferita. *Risultati*: dopo 8 giorni si erano formati due o tre strati di cellule a pareti suberificate, un po' più profondamente di quelle dell' esperienza precedente. Nessuno sviluppo di microrganismi.

XXI. — Superficie del taglio ricoperta da poltiglia del parenchima di patata. Scopo dell' esperienza era di stabilire se, aumentando in modo esagerato i prodotti di decomposizione delle cellule morte, la formazione del sughero venisse stimolata più intensamente. *Risultati*: dopo 8 giorni si erano formati sino a 4 strati di cellule suberose alla distanza di 3 strati di cellule dalla superficie del taglio su cui si erano sviluppati batteri e funghi (*Penicillium*).

XXII. — Superficie del taglio ripetutamente lavata con l'acqua corrente, quindi infettata con una sospensione in acqua di spore di *Penicillium* sp. Scopo dell' esperienza era di stabilire se da parte del fungo si esercitasse una azione stimolatrice o ritardatrice sulla formazione del sughero *Risultati*: dopo 8 giorni si erano formati 2-3 strati di cellule suberose, ma poste assai profondamente. Notevole era l'imbrunimento, per ossidazione, delle membrane cellulari di 4 strati di cellule posti fra il sughero e la superficie del taglio, su cui si era sviluppato il *Penicillium*.

XXIII. — Superficie del taglio ripetutamente lavata con l' acqua corrente, quindi bagnata col liquido colturale di *Penicillium* (decotto di carote) filtrato attraverso il filtro Berkefeld. Scopo dell' esperienza era di stabilire se l'eventuale azione stimolante o ritardatrice esercitata dal fungo fosse da attribuirsi ai prodotti solubili del suo metabolismo. *Risultati*: dopo 8 giorni si erano formati 2-3 strati di sughero posti assai profondamente come nell' esperienza precedente. La superficie del taglio non presentava sviluppo di microrganismi.

Da questa e da altre esperienze risulta ben evidente che

la posizione più o meno profonda del fellogeno dipende da uno stato di sofferenza delle cellule che più direttamente risentono gli effetti della ferita. In tutti i casi di sughero profondo è stato osservato che le cellule degli strati più vicini alla ferita presentano un minor turgore e talvolta fenomeni di ossidazione dei fenoli contenuti nelle pareti. È evidente che la reazione allo stimolo traumatico, con la formazione del fellogeno, non può avvenire che in cellule che si trovano in condizioni fisiologiche normali per ciò che riguarda le principali capacità funzionali del citoplasma.

XXIV. — Stesse condizioni come nell' esperienza precedente, ma col liquido colturale filtrato e bollito. Scopo dell' esperienza era di stabilire se l' eventuale azione stimolante o ritardatrice dei prodotti del metabolismo del fungo fosse dovuta a sostanze termolabili o termostabili. *Risultati*: dopo 8 giorni si erano formati 2 strati di cellule suberose, quasi superficiali. Superficie del taglio asciutta e priva di microrganismi.

XXV. — Superficie del taglio lavata ripetutamente con l' acqua corrente, quindi bagnata con una soluzione di acido ossalico (0,5 °/₀₀). Scopo dell' esperienza era di stabilire se questa sostanza potesse svolgere un' azione stimolante sulla formazione del sughero. *Risultati*: dopo 8 giorni si era formata una sola divisione in ciascuna cellula del secondo strato cellulare sotto alla superficie del taglio Nessuna traccia di microrganismi si era sviluppata su quest' ultima.

XXVI. — Stesse condizioni dell'esperienza XXV, ma invece dell' acido ossalico è stato adoperato l' acido lattico. *Risultati*: come nell' esperienza precedente.

XXVII. — Stesse condizioni dell' esperienza XXV: sostanza sperimentata: soluzione acquosa di tannino 1 °/₀₀. *Risultati*: dopo 8 giorni non si era ancora formato uno strato di sughero; solo pochissime cellule presentavano una parete divisoria. Le pareti delle cellule uccise dalla ferita e di quelle sottostanti erano fortemente imbrunite. Superficie del taglio con sviluppo di microrganismi.

XXVIII. — Stesse condizioni dell' esperienza XXV;

sostanza sperimentata: soluzione 1 °/₀ di nitrato di potassio. *Risultati*: dopo 8 giorni le cellule dello strato immediatamente sotto la superficie dèl taglio presentavano 1 o 2 divisioni: non è stato osservato alcuno sviluppo di microrganismi.

XXIX. — Stesse condizioni dell'esperienza XXV: sostanza sperimentata: soluzione acquosa leggermente acida di chinina 0,5 °/₀. *Risultati*: dopo 8 giorni nel primo e secondo strato cellulare sotto la ferita si notavano 3 o 4 nuovi setti suberificati. La superficie del taglio presentava sviluppo di microrganismi.

XXX. — Il tubero è stato sterilizzato esternamente con soluzione di *uspulun* 2,5 °/₀₀, quindi lavato con acqua bollita, tagliato asetticamente in 2 metà col rasoio in cristallizzatore sterilizzato. La superficie del taglio è stata poi bagnata con soluzione di glucosio 1 °/₀. Scopo dell' esperienza era di stabilire se il glucosio, in assenza di microrganismi, potesse avere un' azione stimolante sulla formazione del sughero. *Risultati*: dopo 8 giorni lo strato cellulare posto immediatamente sotto al taglio presentava sino a tre setti per cellula. La superficie del taglio non era infetta.

XXXI. — Stesse condizioni dell' esperienza precedente solo che al glucosio è stato sostituito il peptone nella stessa concentrazione. *Risultati*: dopo 8 giorni nello strato cellulare posto immediatamente sotto il taglio si notavano quattro e anche cinque pareti suberificate in ciascuna cellula. È questa l' esperienza in cui è stata ottenuta la formazione più abbondante di sughero. La superficie del taglio non era infetta.

XXXII. — Stesse condizioni delle due esperienze precedenti, solo che al glucosio e al peptone è stato sostituito la soluzione di tannino 1 °/₀. Scopo dell' esperienza era di stabilire se l' azione inibitoria esercitata sulla formazione del sughero nell'esperienza XXVII fosse da attribuirsi alla presenza di microrganismi. *Risultati*: dopo 8 giorni solo pochissime cellule presentavano una parete divisoria.

*
* *

Le esperienze eseguite sui tuberi di patata hanno dimostrato quanto segue:

1) asportando con l'acqua il contenuto delle cellule uccise dalla ferita si ha egualmente la formazione del sughero come quando la superficie del taglio non viene lavata;

2) la presenza della poltiglia di patata sopra la superficie del taglio stimola una più abbondante formazione del sughero;

3) i microrganismi i quali si sviluppano sulla poltiglia hanno per effetto di far originare il sughero più profondamente di quando la poltiglia resta sterile;

4) lo stesso effetto si ottiene facendo sviluppare sulla superficie del taglio il micelio del *Penicillium* o bagnando la stessa superficie col liquido colturale di questo fungo passato attraverso il filtro Berkefeld;

5) questo stesso liquido, bollito, non ha alcuna azione stimolante sulla formazione del sughero che si origina superficialmente come quando la superficie del taglio è stata semplicemente lavata;

6) l'ubicazione più o meno profonda del fellogeno è in relazione a uno stato di sofferenza delle cellule che si trovano più o meno vicine alla ferita;

7) l'acido ossalico, l'acido lattico e il nitrato potassico hanno un'azione deprimente sulla formazione del sughero, ma non ne rendono più profonda l'ubicazione;

8) l'acido tannico ha un'azione inibitoria sulla formazione del sughero;

9) la chinina in soluzione debolmente acida ha una azione nettamente stimolante sulla formazione del sughero che avviene superficialmente anche se la ferita è contaminata da microrganismi;

10) il glucosio, in soluzione 1 % e in assenza di microrganismi, ha un'azione leggermente stimolante; nelle stesse condizioni una soluzione 1 % di peptone ha un'azione stimolante notevolmente maggiore.

CONSIDERAZIONI GENERALI.

Se i risultati ottenuti nelle due serie di esperienze suesposte confermano quanto già si conosceva intorno alle condizioni che favoriscono od ostacolano la formazione del sughero delle ferite, tuttavia alcuni di essi permettono di dare della natura e della genesi dello stimolo traumatico un' interpretazione che merita di esser discussa in relazione alle nozioni che sul processo di cicatrizzazione ci sono state fornite dalle ricerche degli altri sperimentatori.

Un primo risultato concerne la natura dello stimolo che dalla ferita viene trasmesso alle cellule viventi capaci di reagire.

Si può senza dubbio supporre che in luogo della formazione di sostanze stimolanti, che dalla ferita si diffondino sino al punto dove avviene la reazione, si tratti della variazione di qualche proprietà fisica delle cellule (1), come della variazione del potenziale elettrico, della tensione superficiale, della pressione osmotica o del grado di dispersità di alcuni colloidi del citoplasma. Queste perturbazioni dell' equilibrio dell' attività vitale delle cellule potrebbero forse esser sufficienti a provocare la divisione cellulare e la formazione del sughero quando gli elementi istologici, che diventano sede di questi processi, si trovino nella condizione di reagire per l'azione specifica, che secondo Haberlandt, su di loro esercita l' *ormone della divisione cellulare* (Zellteilungshormone) e che si può considerare, con Brieger, come un *fattore di realizzazione* (2). Evidentemente il voler

(1) Cfr. GRAFE V., *Chemie der Pflanzenzelle*, Berlin, 1922, p. 157 e seg.

(2) BRIEGER FR., in « Ber. d. d. Bot. Ges. », XLII, 1924. È molto probabile che l' ormone del leptoma sia da considerarsi semplicemente come un' ossidasi (*leptomina*). Secondo le recenti ricerche sperimentali e relative deduzioni di Hammelt (« Protoplasma » VII, 1929, pag. 297 e 535) il gruppo solfidrile (HS) dovrebbe considerarsi come l'elemento attivo dello stimolo alla divisione e proliferazione cellulare.

considerare lo stimolo traumatico di natura esclusivamente chimica o esclusivamente fisica non potrebbe derivare che da una concezione troppo ristretta di un simile fenomeno. Non si può infatti ammettere che esso risulti solamente da un' azione chimica o da un' azione fisica.

Il fatto che per effetto di sostanze riducenti (esp. XIV, XXVII e XXXII) si può inibire il sorgere dello stimolo traumatico, pur lasciando il tessuto ferito nelle identiche condizioni fisiche di quando esso dà origine ad abbondante sughero, dimostra indirettamente che per lo meno una delle condizioni per cui si compie la prima fase del fenomeno, la *recezione* dello stimolo (1), è costituita da un processo prettamente chimico, cioè da un' ossidazione. Questa conclusione era anche presumibile dal fatto che in assenza di ossigeno non si aveva formazione del sughero (2), ma le condizioni particolari, nelle quali, per realizzare l' esperienza, era posto l' organo, potevano far sorgere delle obiezioni sull' attendibilità della conclusione stessa, alla quale del resto portavano indirettamente anche la nozione dell' esaltamento dello stimolo per effetto di agenti ossidanti (esp. XVIII) (3) e la nozione dell' accumularsi delle ossidasi nel punto della ferita (4).

Inoltre il fatto che lo stimolo traumatico può essere intensificato o attenuato da diverse sostanze organiche ed inorganiche e dagli stessi prodotti del metabolismo di microrganismi saprofiti, trovasi in accordo con la conclusione suddetta, che la prima fase del processo della stimolazione traumatica è costituita da un' azione chimica.

---

(1) Questa prima fase della stimolazione è chiamata da Mangold *suszeption* (*Ergebnisse der Physiologie*, XXI, 1922, p. 362).

(2) Cfr. principalmente i lavori di Kny (« Ber. d. d. Bot. Ges. », VII, 1889); di Olufsen (« Beihefte z. Bot. Centrbl. », XV, 1903); di Appel (« Ber. d. d. Bot. Ges. », XXIV, 1906); di Massart (« Rec. d. l'Inst. Bot. L. Errera », III, 1908).

(3) Cfr. Kny, loc. cit.

(4) Cfr. fra gli altri Johnstone in « Bot. Gaz. », LXXIX, 1925; Popoff (« Biol. Zentrlbl. », XLIII, 1923, p. 244) ha mostrato tutta la parte importantissima che l' intensificarsi dei processi di ossidazione ha in tutti i fenomeni di stimolazione.

Ma quale è la natura chimica della sostanza o delle sostanze che si formano in questa prima fase? Alcune esperienze di Reiche (1) e specialmente quelle di Wehnelt (2), avevano già dimostrato che il prodotto attivo è una sostanza termostabile (3); le mie esperienze hanno confermato questo fatto, per cui si può escludere che si tratti di un enzima. La proprietà di passare attraverso l' ultrafiltro, dimostrata da Wehnelt, indica pure che la sostanza attiva non è legata a granulazioni microscopiche.

L' ossigeno atmosferico, sia direttamente, sia con l' intervento delle ossidasi, determina l' ossidazione di una sostanza facilmente ossidabile che preesiste probabilmente, in uno stato inattivo, nelle cellule viventi di ogni tessuto vegetale.

Che questo prodotto di ossidazione si diffonda poi di cellula in cellula sino a quelle che si trovano nelle condizioni di poter reagire è un problema per ora del tutto insoluto. È però molto probabile che lo stimolo traumatico si trasmetta senza che la sostanza, che ha agito nella prima fase del processo di recezione, si diffonda oltre le cellule danneggiate dalla ferita. Sono piuttosto le modificazioni fisiche e chimiche, che il prodotto di ossidazione attivo determina nelle cellule viventi contigue a quelle lesionate, che sono trasmesse da cellula a cellula mediante le comunicazioni citoplasmatiche. È difficile ammettere che un prodotto derivato dalla disorganizzazione del contenuto cellulare, anche di tessuti estranei, possa diffondersi attraverso il protoplasto vivente. Tutt' al più si potrebbe riconoscere come possibile l' infiltrazione del prodotto attivo in un tessuto lungo gli spazi intercellulari che si aprono sulla superficie della ferita o per imbibizione delle pareti cellulari. Ma in quest' ultimo caso l' eccitazione dovrebbe avvenire assai irregolarmente, mentre è noto

(1) Reiche H., in « Zeitschr. für Botanik », XVI, 1924, p. 241.

(2) Wehnelt B., in « Jahrb. für wiss. Bot. », LXVI, 1926, p. 773.

(3) Secondo Wehnelt (l. c.) in presenza di alcali la sostanza attiva non è più termostabile.

che la formazione del fellogeno, come reazione alla ferita, avviene assai regolarmente secondo un piano parallelo alla superficie della ferita stessa. Ciò dimostra che le cellule capaci di reagire vengono stimolate nello stesso tempo. È dunque lecito ammettere che il prodotto di ossidazione attivo si limiti a produrre quella modificazione iniziale, nelle proprietà specialmente fisiche del citoplasma, che è trasmissibile da protoplasto a protoplasto (1), intervenendo per tal modo nell' originarsi e nella trasmissione dello stimolo traumatico, fenomeni chimici e fisici.

Un secondo risultato concerne il luogo dove ha origine il prodotto attivo. Non solo l' attivazione, per ossidazione, della sostanza, normalmente inattiva, avviene nelle cellule lesionate dalla ferita, ma anche in quelle immediatamente vicine, che per quanto integre, indirettamente risentono degli effetti del trauma. Infatti quando il contenuto delle cellule lesionate è precipitato con un reattivo adatto nel momento stesso in cui avviene la ferita (esp. XI) la formazione del sughero si verifica egualmente; e così pure avviene nel tubero di patata quando la superficie del taglio sia liberata da ogni traccia del contenuto delle cellule uccise mediante un ripetuto lavaggio (2). L' esame microscopico ha dimostrato che le cellule confinanti con quelle lesionate dalla ferita presentano fenomeni di ossidazione nella membrana o muoiono poco tempo dopo con gli stessi fenomeni di ossidazione postmortale di tutti i composti facilmente ossidabili contenuti nel citoplasma e nella mem-

(1) Che nella trasmissione dello stimolo traumatico non intervenga una diffusione della sostanza stimolante proveniente dalle cellule morte, è una opinione espressa anche da Jost, da Brieger e da altri fisiologi.

(2) Se nel cavolo-rapa è sufficiente il lavaggio della ferita per non stimolare la formazione del sughero, come ha constatato Haberlandt, ciò si deve probabilmente al fatto che l' ossidazione della sostanza, suscettibile di attivazione, avviene più difficilmente nelle cellule, che, pur essendo confinanti con la ferita, conservano integra la loro membrana.

brana. Del resto Haberlandt aveva già dimostrato che lo stimolo traumatico si verifica anche quando le cellule sono semplicemente deformate o compresse. In questi casi naturalmente la formazione del sughero avviene con un certo ritardo in confronto a quando sulla superficie della ferita si trovino numerose cellule uccise con tutto il loro contenuto.

Un terzo risultato concerne la non specificità dell'azione stimolante dei prodotti che si originano nelle cellule danneggiate dalla ferita. È infatti ben confermato dalle suesposte esperienze quanto già era risultato da quelle di Wehnelt, che non solo la poltiglia o il succo dei tessuti di una pianta possono stimolare la divisione cellulare in tessuti di una pianta sistematicamente molto diversa, ma che questi complessi ed indefiniti miscugli di sostanze organiche possono essere sostituiti da prodotti pure organici ma ben definiti, estranei ai tessuti vegetali, come l' albumina dell' uovo, il siero di cavallo, l' emoglobina, la deuteroalbumosa e preparati d' insulina (Wehnelt). Nelle mie esperienze il peptone di carne si è dimostrato attivissimo stimolante della formazione del sughero. D'altra parte, e relativamente alla semplice stimolazione della proliferazione cellulare in tessuti non feriti, come nelle esperienze di Wehnelt, sono da ricordare qui le iperplasie ottenute da Erwin Smith (1) facendo agire i vapori di ammoniaca, dimetilamina, formaldeide, acido acetico e acido formico in tenuissima concentrazione (2).

Un quarto risultato concerne l' azione dei microrganismi saprofiti che si sviluppano sulla ferita (Esp. II, III, IV, VI, VIII, IX, X, XXII, XXIII, XXIV). Rivera (3) ha mo-

---

(1) Smith E. F., in «Journ. of Agric. Researc», VIII, 1917.

(2) I risultati delle esperienze di Wehnelt, come quelli di Smith, ai quali si possono aggiungere quelli noti di Schrenk (solfato di rame) rientrano veramente fra i fenomeni di chemomorfosi. In queste esperienze le proprietà chimiche delle sostanze adoperate non hanno dunque alcuna influenza specifica sulle qualità del tessuto neoformato.

(3) Rivera V., in «Rendic. R. Accad. Lincei», 1929.

strato recentemente che almeno in qualche caso la presenza della *Pseudomonas fluorescens* (Flügge) Mig. può stimolare in modo evidente la cicatrizzazione delle ferite ; anche Montemartini (1) aveva già constatato una simile azione stimolante da parte delle comuni muffe sulla formazione del sughero delle ferite nei tuberi di patata.

Nelle mie esperienze è risultato che se l' organo ferito trovasi in condizioni di debole attività funzionale, i microrganismi saprofiti possono ostacolare o anche impedire la formazione del sughero coi prodotti solubili del loro metabolismo, che deprimono notevolmente l' attività vitale delle cellule capaci di reagire ; ma se l' organo ferito trovasi in buone condizioni funzionali, l' azione dei microrganismi o dei loro prodotti o stimola o non ostacola affatto la formazione del sughero.

Che la presenza di microrganismi non sia necessaria perchè questo processo si compia, è dimostrato non solo dai risultati delle esperienze III, XI, XXX, XXXI e XXXII, ma anche dal fatto che nelle piante legnose specialmente avvengono spesso, per cause inorganiche, delle necrosi di tessuti che restano inclusi in mezzo ad altri viventi, e separati da questi da un fellogeno che si è formato in assenza di qualsiasi microrganismo.

I risultati delle esperienze sopra l' azione dei microrganismi sulla formazione del sughero ha permesso anche di chiarire un fatto che era già stato osservato, ma di cui non si era trovata una spiegazione sicura.

Il fellogeno si origina talvolta nello strato cellulare posto quasi immediatamente sotto la superficie della ferita, talvolta invece assai profondamente.

Haberlandt ha cercato di spiegare il fatto ammettendo che qualche volta, in luogo di una stimolazione, per l' elevata concentrazione della sostanza attiva, si verifichi una *superstimolazione* per cui reagirebbero gli strati cellulari più profondi. Jost (2) riconosce che una simile spiegazione ha bi-

(1) Montemartini L., in « Riv. Pat. Veg. », XVII, 1927.

(2) Benecke-Jost, *Pflanzenphysiologie,* Bd. II, 1923, p. 135.

sogno di esser più sicuramente stabilita. È risultato dalle esperienze IX e XXIII, che l'azione tossica esercitata dai prodotti del metabolismo dei microrganismi saprofiti dovuta a una sostanza termolabile (esp. XXIV), ha per effetto di rendere impossibile per gli strati cellulari, posti più vicini alla ferita, di reagire allo stimolo traumatico. Quest'azione parzialmente inibitoria non impedisce dunque allo stimolo di esser trasmesso a una certa distanza dalla ferita, essa si esercita solo sulla capacità di reazione. Può darsi che anche nelle esperienze di Haberlandt e di altri sperimentatori l'inquinamento della superficie della ferita sia stata la causa dell'ubicazione profonda del fellogeno, ma non si può escludere che in qualche caso fra i prodotti delle cellule, che si modificano in seguito al trauma, se ne formi qualcuno che abbia un'azione tossica o comunque inibitoria sul processo della divisione cellulare. Io credo quindi che non si possa parlare in simili casi di una *superstimolazione*, ma piuttosto di uno stato di sofferenza generale in cui trovasi la cellula, per la rottura dell'equilibrio osmotico, e per la brusca modificazione di tutte le altre sue condizioni fisiologiche, o anche per l'azione tossica di prodotti delle cellule necrosate.

Questo stato di sofferenza, che può diffondersi a qualche strato cellulare al disotto della ferita, lungi dall'impedire la trasmissione dello stimolo, almeno entro un certo limite di gravità, viene ad intensificarlo, ma, come è facile comprendere, la reazione non può verificarsi che nelle cellule ancora più profonde che si trovano in condizioni fisiologiche normali per poter dare origine al fellogeno (1).

(1) Il ritardo notato da Montemartini (« Ann. di Botanica », XVII, 1927) nella formazione del fellogeno nella porzione dei tuberi di patata che portavano gemme, in confronto a porzioni a cui queste erano state tolte, deve essere considerato come un fenomeno di correlazione di natura trofica, giacchè durante l'esperienza le gemme avevano certamente incominciato a svilupparsi provocando verso di loro correnti di materiali plastici a scapito degli strati cellulari nei quali doveva differenziarsi il fellogeno, mentre il fenomeno non si verificava

Un ultimo risultato delle mie esperienze concerne la mancata constatazione di una stimolazione del formarsi del sughero delle ferite nelle foglie di *Echeveria*, esponendo la superficie della ferita di quest' ultima alle presunte radiazioni mitogenetiche della poltiglia dei tessuti delle foglie stesse. Questo risultato negativo era stato ottenuto anche dall' Haberlandt e, come è noto, il Gurwitsch (1) ha cercato di confutare questo risultato riferendo che la poltiglia di tessuti di foglie di crassulacee è invece attiva, con le proprie radiazioni, sopra colture di saccaromiceti. Nelle mie esperienze si sono dimostrate inattive anche le colture dei microrganismi saprofiti che si sviluppano sulla superficie della ferita e ai quali eventualmente potevasi attribuire la proprietà di emettere radiazioni mitogenetiche. Naturalmente questi risultati negativi non hanno che un valore molto relativo. Le affermazioni del Gurwitsch e della sua scuola non potranno ricevere una conferma sicura o una

---

nella stessa porzione di tubero più lontana dalle gemme. Non si tratta quindi in questo caso di un ritardo nella fase di recezione dello stimolo, nè di un impedimento della sua diffusione alle cellule capaci di reagire, ma solo di una insufficiente realizzazione di quelle condizioni fisiologiche che permettono il sorgere della reazione allo stimolo. È a questa stessa causa che devesi attribuire il ritardo o la mancata formazione del fellogeno in altra esperienza dello stesso autore, il quale riunendo per la superficie del taglio due porzioni di un tubero di patata, ad una delle quali gli aveva tolto tutte le gemme, ha trovato che dopo alcuni giorni in quest' ultima il sughero della ferita si era formato normalmente quando nell' altra porzione, provvista di gemme, non si era ancora formato. L'Autore si domanda in qual modo le gemme possano rallentare lo sviluppo delle ossidasi sulla ferita che potrebbero forse funzionare da sostanze stimolanti della formazione del fellogeno, e perchè la diffusione di queste sostanze non avviene dalla porzione di tubero senza gemme a quella provvista di gemme, in cui avrebbero potuto provocare la formazione del sughero. Evidentemente anche in questo caso non si tratta di mancata trasmissione dello stimolo, ma di mancata reazione per condizioni trofiche sfavorevoli delle cellule nelle quali dovrebbe avvenire la reazione.

(1) Gurwitsch, in « Biol. Zentralbl. », 1929.

definitiva smentita sino a che non si sarà escogitato un metodo che possa rivelarci gli effetti di simili radiazioni in un modo che sia controllabile con apparecchi di misura, eliminando qualsiasi apprezzamento soggettivo da parte dello sperimentatore.

I risultati delle esperienze e le considerazioni suesposte sono in accordo con quell'opinione che non riconosce alle sostanze, che nelle ferite stimolano indirettamente la formazione del sughero, la qualità di *ormoni*, nel senso con cui originariamente con questa parola si sono voluti indicare nella fisiologia degli animali i prodotti degli organi a secrezione interna. Senza dubbio se alla parola *ormone* noi attribuiamo un significato molto lato, se, come suggerisce Kotte (1), dobbiamo farci degli *ormoni vegetali* un concetto particolare che non coincide perfettamente con quello che nella fisiologia dell'uomo o degli animali è stato adottato dalla maggior parte degli scienziati (2), allora le sostanze che si formano nel punto delle ferite potrebbero forse esser chiamate *ormoni*.

Ma si deve far osservare che Haberlandt è stato indotto ad indicarle con questo nome anche per la loro presunta proprietà di diffondersi nel tessuto per stimolarvi direttamente la formazione del sughero. Risulta ora dalle suesposte considerazioni critiche, e da quelle di Brieger, che difficilmente può attribuirsi una simile proprietà ai prodotti dell'ossidazione che si originano alla superficie delle ferite, per cui anche quella supposta analogia con gli *ormoni* animali non ha alcuna base sperimentale sicura. Come ho già detto al principio di questa memoria, questa mancata dimostrazione della natura ormonica delle *sostanze delle ferite* non significa che nelle piante superiori non si originino dei prodotti che abbiano le proprietà e le funzioni degli *ormoni animali*. Molti fenomeni di correlazione dello

(1) *Loc. cit.*, pag. 162.

(2) Non tutti gli studiosi della fisiologia animale sono infatti d'accordo sul concetto di *ormone*. Cfr. Biedl in « Verhandl. d. Ges. d. Naturforscher », Leipzig, 1911 e Jost, *l. c.* p. 136.

sviluppo ontogenetico presuppongono, come è noto, l'esistenza di particolari sostanze che regolino l'armonico accrescimento e funzionalità dei diversi organi. La sostanza (*leptomina*) scoperta da Haberlandt, e che agisce come un *fattore di realizzazione* nel processo di divisione cellulare, presenta alcune analogie con gli *ormoni* propriamente detti, e questa, piuttosto che la *sostanza delle ferite*, può essere indicata come un esempio di *ormone vegetale*, in attesa di poter realmente dimostrare l'esistenza nelle piante di veri *ormoni*.

CONCLUSIONI.

Le ricerche sperimentali suesposte, insieme alle deduzioni critiche che ne derivano, conducono alle seguenti conclusioni:

1.° La cosidetta *sostanza delle ferite* (*Wundstoffe*), *o ormone delle ferite* (*Wundhormone*) di Haberlandt, dev' esser considerata come un prodotto di ossidazione di un composto contenuto comunemente nelle cellule vegetali viventi e normalmente inattivo. La sua attivazione avviene a contatto dell' ossigeno atmosferico, sia direttamente, sia mediante l'intervento delle ossidasi, che sempre si accumulano nel punto della ferita.

2.° Il prodotto di ossidazione attivo deve essere considerato come la sostanza necessaria, per quanto ad azione non specifica, per render possibile la prima fase (di *recezione*) del processo di stimolazione, determinando nel citoplasma quelle modificazioni fisiche, e forse anche chimiche, che vengono trasmesse da protoplasto a protoplasto sino alle cellule che si trovano nelle condizioni di reagire allo stimolo con la divisione e la formazione di pareti suberificate.

3.° La diffusione del prodotto di ossidazione attivo attraverso le cellule viventi, e anche lungo gl' intercellulari o per imbibizione delle membrane cellulari, è difficilmente ammissibile.

4.° Come un fattore d' integrazione dello stimolo traumatico si deve considerare lo stato di sofferenza generale delle cellule vicine alla ferita in seguito all'azione dei prodotti di disorganizzazione del contenuto delle cellule morte o comunque danneggiate, in seguito a brusche variazioni di condizioni trofiche del citoplasma e anche all'azione di microrganismi saprofiti che si sviluppano sulla superficie della ferita.

5.° A seconda della maggiore o minore gravità di questo stato di sofferenza le cellule che sono capaci di reagire con la divisione e la formazione del fellogeno sono situate più o meno profondamente nel tessuto.

6.° L'azione dei microrganismi saprofiti che si sviluppano sulla superficie della ferita non è necessaria perchè avvenga la formazione del fellogeno, in rari casi essa può avere un effetto stimolante; ma quando l'attività vitale dell'organo è assai depressa, i prodotti del metabolismo dei microrganismi saprofiti possono impedire del tutto la formazione del sughero. In altri casi questa stessa azione tossica, che non inibisce la trasmissione dello stimolo traumatico, non permette la reazione a quest'ultimo che negli strati cellulari profondi.

7.° Non è stata constatata alcuna azione stimolante sulla formazione del sughero delle ferite da parte di radiazioni mitogenetiche (Gurwitsch) che emanino dalla poltiglia dei tessuti di organi simili a quelli posti in esperimento, nè da colture dei microrganismi saprofiti che si sviluppano sulla superficie della ferita.

8.° Il modo di originarsi e le proprietà della *sostanza delle ferite* tendono a fare escludere che essa possa esser definita un *ormone*, anche accordando al concetto di *ormone vegetale* un significato alquanto diverso da quella di *ormone animale*.

L. Petri.



Gli zoosporangi nella Sclerospora macrospora

Nonostante le numerose ricerche di cui è stata oggetto la peronospora dei cereali, *Sclerospora macrospora* Sacc., innanzi tutto da noi in Italia, ove fu scoperta per la prima volta, poi all' estero (in Germania, in Francia, negli Stati Uniti, nel Giappone, in Australia), molti punti della sua biologia rimangono tuttora nell' ombra. Di essa, per esempio, non si conoscono altri organi di riproduzione, all' infuori delle oospore. Ciò appare tanto più singolare inquantochè di parecchie altre specie di *Sclerospora*, a cominciare dalla *Sc. graminicola* (Sacc.) Schröt. che è quella da più tempo descritta, si conoscono, oltre alle oospore, anche degli zoosporangi portati da sporangiofori bene evoluti e differenziati.

Una circostanza che merita particolare rilievo è lo stretto rapporto esistente tra l' infezione peronosporica e la sommersione, sia pur breve, dei seminati: correlazione nettamente stabilita dalle osservazioni ripetute per una lunghissima serie di anni dal Peglion, che per primo si occupò diffusamente della malattia (1), e confermata da quelle di Cuboni (2) e di Traverso (3).

Ma, come giustamente dice il Peglion (1 *c*) « questa stretta correlazione tra allagamento dei seminati e comparsa della *Sclerospora* — nei terreni che, evidentemente, devono albergare i germi di essa — non ha ancora ricevuto una spie-

(1) Peglion V. — *a*) *La peronospora del frumento*, « Boll. Not. Agr. », n. 20, 1900; Id. *b*) *La peronospora del frumento*, « Le Staz. Sperim. Agr. Ital. », **34**. 1901, p. 506 ; Id. *c*) *Le malattie delle piante coltivate*, 5ª ediz. Casale Monferrato, 1928, p. 157.

(2) Cuboni G., *Nuove osservazioni sulla peronospora del frumento* (*Sclerospora macrospora* Sacc.), « Rend. R. Acc. dei Lincei », **13**, 1º sem., Ser. 5ª, 1904, p. 545–547.

(3) Traverso G. B., *La peronospora del frumento in provincia di Padova*, « Il Raccoglitore », **4**. Padova, 1906, p. 18 ; Id., *La sommersione del granoturco e la peronospora delle graminacee*, « Il Coltivatore », n. 35, 1914.

gazione plausibile. Sembra che la sommersione debba servire a liberare le oospore che in questa specie — a differenza della *Sclerospora graminicola* — sono solidamente incastonate nello spessore dei tessuti dell' ospite ».

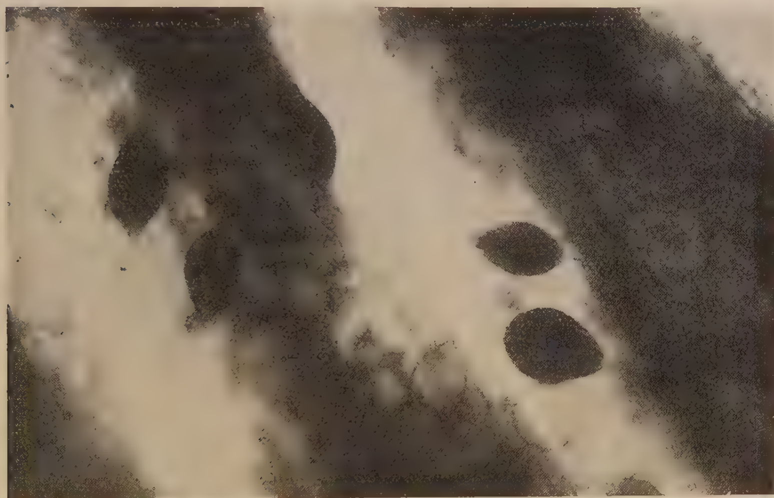
Che le oospore debbano essere gli agenti mediante i quali la *Sclerospora* si conserva da un anno all' altro e che ad esse vadano attribuite le infezioni primarie nei seminati non appena le condizioni ambientali lo permettano, è cosa, direi quasi, ovvia, dato quanto si sa sulla funzione di questi organi in numerosissime altre Peronosporacee. Ma queste stesse analogie, per l' appunto, ci portano a ritenere poco probabile che le oospore debbano funzionare quali organi esclusivi, non solo della riproduzione, ma anche della moltiplicazione e rapida diffusione della specie: se così fosse l' infezione dovrebbe interessare un numero piuttosto limitato di piante, mentre, secondo quanto afferma lo stesso Peglion, essa assume invece talora proporzioni disastrose.

Tali considerazioni portano a pensare che, nei casi di sommersione dei seminati, le prime infezioni siano bensì causate dalle oospore esistenti nel terreno, sia mediante la diretta emissione di zoospore, sia colla produzione di zoosporangi (in modo analogo a quanto si verifica nella peronospora della vite), ma che, in un secondo tempo, sulle piante infette si sviluppino numerosi zoosporangi le cui spore diffondano ulteriormente la malattia, infettando la massima parte delle piante sommerse.

Allo scopo di verificare questa ipotesi feci, fin da dieci anni or sono, replicati tentativi per ottenere la produzione di zoosporangi da materiale infetto (frumento), immerso nell' acqua. La maggior parte di questi tentativi ebbero esito negativo, giacchè io lavoravo con materiale inviato talora da notevole distanza e che spesso arrivava in cattive condizioni, oppure nel quale il fungo era già troppo evoluto, avendo prodotto abbondantissime oospore in tutti gli organi invasi. Pensai allora di rivolgermi, per avere materiale più adatto, alla R. Stazione di Cerealicoltura di Rieti, diretta dal Prof. Strampelli, che per vari anni (1924-1926)

gentilmente mi fece spedire abbondanti campioni di frumento attaccato dalla Sclerospora.

Frammenti di culmi e di foglie, possibilmente ancora in via di accrescimento, venivano ripetutamente lavati con acqua corrente, poi in acqua sterile e quindi trasportati in capsule Petri in acqua pura sterile — acqua di conduttura o acqua distillata. — Tentativi di cultura su substrati artificiali furono pure fatti, sia prelevando asetticamente frammenti di culmo ancora chiuso nella guaina fogliare, sia sterilizzando in alcool e quindi sciacquando in acqua sterile pezzetti di materiale infetto, e inoculandone poi substrati artificiali solidi o liquidi. I risultati furono sempre negativi.



Zoosporangi di *Sclerospora macrospora* sopra una foglia di frumento. Tra i due zoosporangi a destra, una zoospora che ha perso le ciglia assumendo forma sferica.

Ottenni invece la formazione di abbondanti zoosporangi su foglie e culmi immersi in acqua, nel modo anzidetto, una prima volta nel 1924 e poi nuovamente nel 1926. I tentativi fallirono nel '25, probabilmente perchè il grano era già troppo inoltrato nel suo sviluppo, e così pure il parassita.

Gli zoosporangi sono, come in moltissime Peronosporacee, limoniformi, con una papilla apicale assai ottusa, quasi tronca. Le zoospore sono, come di regola, munite di due ciglia, che perdono dopo breve tempo, assumendo forma sferica. Ciò si verifica, non di rado, e in modo analogo a quanto avviene nel genere *Phytophthora*, nell' interno stesso dello zoosporangio. Non ho mai osservato qui, tuttavia, la germinazione delle zoospore direttamente attraverso la parete sporangica, come fu osservata, p. es., da Petri nella *Ph.* (*Blepharospora*) *cambivora* e da me stesso nella medesima specie, nonchè nella *Phytophthora* del Lupino e in varie altre specie che si sviluppano sui frutti degli aranci e dei limoni.

Gli sporangiofori fuoriescono a gruppi attraverso le aperture stomatali e traggono origine da un piccolo stroma miceliare che riempie completamente la camera ipostomatica. Essi sono fortemente constipati e presentano alla base una accentuata strozzatura prodotta dalle cellule stomatiche, tanto che si distaccano facilmente anche prima di avere prodotto gli zoosporangi; non sarei alieno dal pensare che in natura essi possano comportarsi come germi d'infezione (1). Sono sempre semplici, ora brevissimi ed ora più o meno allungati, fino a raggiungere una lunghezza anche doppia di quella degli zoosporangi.

La loro produzione è di brevissima durata ed è subordinata alla presenza, nel materiale in esame, di micelio molto giovane, in pieno accrescimento e che non abbia ancora prodotto le oospore. Ciò spiega i risultati negativi da me ottenuti nella maggior parte dei miei tentativi; e valga altresì a giustificare la incompletezza delle osservazioni qui riportate.

Uno studio di questo genere si compirebbe nelle migliori condizioni avendo a disposizione piante infette nelle immediate vicinanze del laboratorio. Comunque, non dubito

(1) Ciò rappresenterebbe un notevole beneficio per il parassita nei casi di sommersione di durata troppo breve perchè esso abbia tempo di differenziare gli zoosporangi.

che, richiamata ora l'attenzione degli studiosi su questi organi della diffusione della Sclerospora, altri vorranno riprendere le osservazioni e portarle a maggior perfezione.

Gli zoosporangiofori da me osservati differiscono profondamente da quelli segnalati nelle varie specie di *Sclerospora*, e con particolare accuratezza descritti e figurati dal Weston (1) nella *Sc. philippinensis* West. e nella *Sc. spontanea* West., ma già ben noti nella *Sc. graminicola*, tipo del genere. Dal punto di vista biologico ciò si spiega molto bene per il fatto che in quelle specie si tratta di organi aerei, mentre nella *Sclerospora macrospora* sono organi acquatici: un parallelismo notevole si osserva, da questo punto di vista, nei generi *Phytophthora* e *Plasmopara*. La *Plasmopara viticola* p. es., produce, come è noto, oltre ai tipici zoosporangiofori foliicoli, ramosi, anche zoosporangiofori semplici che hanno origine, a primavera, dalle oospore svernate alla superficie, o presso la superficie del suolo, quando appunto questo è ricoperto, in seguito alle piogge, di un velo d'acqua.

Dal punto di vista sistematico questa discrepanza morfologica potrebbe portare a domandarsi se la peronospora del grano trovi veramente nel genere *Sclerospora* il suo posto più adatto. Ma, considerando come nella discriminazione tra questo genere e gli affini (*Phytophthora*, *Basidiophora*, *Plasmopara*) lo Schröter, creatore del genere stesso, giustamente si è basato in modo particolare sopra i caratteri delle oospore, e tenendo presente, d'altra parte, quanto dicevo or ora circa l'esistenza anche nei generi *Phytophthora* e *Plasmopora* di zoosporangiofori poco differenziati, mi sembrerebbe per lo meno prematuro insistere sulla questione, d'altronde d'importanza secondaria.

Firenze, R. Istituto Sup. Agrario e Forestale.
Laboratorio di Biologia vegetale
e R. Osservatorio Fitopatologico.

B. Peyronel.

(1) Weston W. H., *Philippine down mildew of maize*, « Journ. of Agric. Research, **19**, 1920, p. 97-122, pl. 16--25; Id. *Production and dispersal of conidia in the Philippine Sclerosporas of Maize.* « Journ. of Agric. Research, **23**, 1923, p. 239-278, pl. 1--10.

Ricerche sulla natura e sulla conservazione del legno della Nave romana di Nemi

La Direzione Generale delle Antichità e Belle Arti nell'estate scorsa si rivolse a questa R. Stazione per avere un parere sull'uso del prodotto « Ecozid » della Ditta G. Glawe di Charlottenburg, proposto come un ottimo conservatore del legno e che si sarebbe voluto adoperare per preservare il legname della Nave di Nemi, recentemente messa in secco, dall'azione di funghi e di altri organismi xilofagi.

Incaricato dal Direttore di eseguire delle prove col detto prodotto in confronto di altri preservativi, ritenni opportuno di compiere prima di tutto sul legno della Nave romana alcune ricerche che potessero stabilirne non solo le condizioni attuali di conservazione, ma anche il riferimento sistematico, sia per l'importanza archeologica del materiale stesso, sia perchè la scelta del metodo di preservazione avrebbe potuto essere subordinata alla nozione esatta della natura del legno da sottoporre al trattamento.

Le prove di preservazione, eseguite col preparato tedesco a noi suggerito, furono quindi precedute da ricerche sistematiche sui legni della nave e da ricerche microchimiche per stabilire le eventuali alterazioni subìte dal legname stesso. I campioni di legno furono in parte inviati dalla stessa On. Direzione Generale delle Antichità e Belle Arti, in parte prelevati direttamente sul posto dallo scrivente.

Dalle ricerche microscopiche eseguite per la determinazione dei legni è risultato che le essenze impiegate dai Romani nella costruzione della nave furono quattro; di cui due appartenenti al grande gruppo delle *Coniferae* e due alle *Dicotyledones.*

La massima parte del legname trovato, foggiato in travi e tavole, è di conifera. Questo legno è perfettamente conservato

e la sua struttura non ha subìto trasformazioni, solo le parti esterne sono alterate e corrose dal contatto con l'acqua, per modo che dalla superficie dei pezzi sporgono maggiormente i nodi costituiti da tessuto più duro. L'esame delle sezioni di questo legno, che conferma quanto un occhio

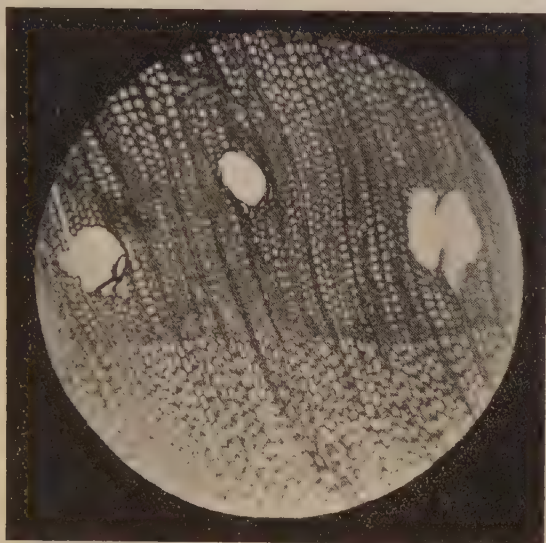


Fig. 1. — Sezione trasversale di legno di Pino mostrante tre canali resiniferi.

esercitato può rilevare anche macroscopicamente, ha permesso di stabilire che le specie vegetali sono due: una risulta all'osservazione microscopica fornita di canali resiniferi verticali, l'altra è priva di canali verticali. La prima specie, che è predominante, è servita per la costruzione delle parti dritte dell'ossatura della nave, per il fasciame esterno, per la chiglia e per il pontile col quale la nave si attaccava alla riva. Questa specie presenta due o tre fori di mediocre grandezza nei campi d'incrocio fra i raggi midollari e le tracheidi, appartiene al genere *Pinus* e con molta probabilità alla specie *P. halepensis,* già fin dal tempo dei

Romani diffusa in tutto il bacino mediterraneo. Le figure 1, 2, 3 mostrano le sezioni trasversale, longitudinale radiale e longitudinale tangenziale di un frammento di legno; da esse si vede chiaramente la perfetta conservazione della struttura.



Fig. 2. — Sezione longitudinale radiale di legno di Pino.

La specie priva di canali resiniferi verticali fu adoperata in minor proporzione e cioè per quasi tutte le parti interne come serrette, paramezzali, puntelli verticali, bagli, porte interne ecc.; essa è stata determinata, per le caratteristiche dei raggi midollari, della costituzione della zona primaticcia e della zona tardiva del legno, per un *Abies* e precisamente per *Abies pectinata*. Anche questa specie dell'Europa centrale e meridionale era abbastanza frequente in Italia.

Le figure 4, 5 e 6 rappresentano le tre sezioni trasversale, longitudinale radiale e longitudinale tangenziale.

I legni di dicotiledoni furono adoperati dai costruttori per le parti dove era necessaria una curvatura e quindi agli estremi di poppa e prua per le quali non si prestavano i

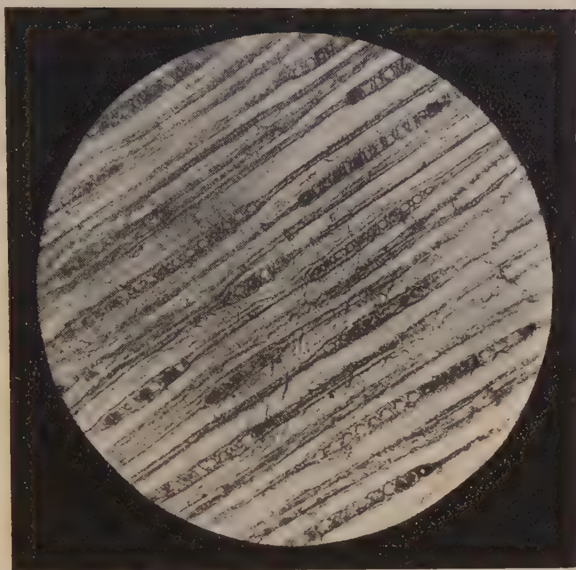


Fig. 3. — Sezione longitudinale tangenziale di legno di Pino.

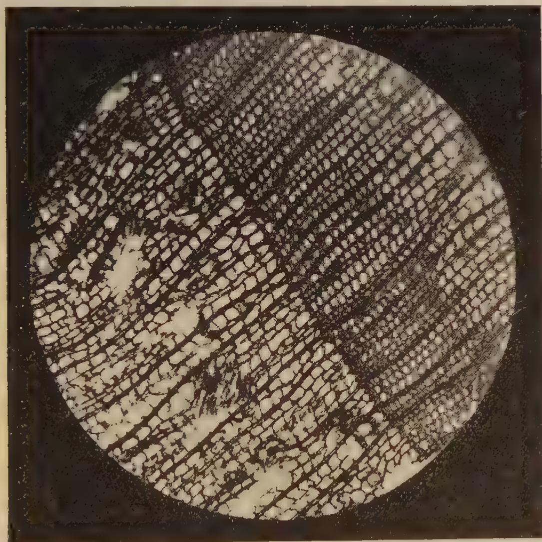


Fig. 4. — Sezione trasversale di legno di Abete.

legni di conifera e per il piano di sopra coperta su cui poggiavano i tegoloni del pavimento. Tale legname è profondamente modificato da un processo molto avanzato di carbonizzazione che, per l'alterazione indotta negli elementi e per la fragilità acquisita dal materiale, ha reso molto difficile tanto l'esecuzione delle sezioni quanto la determinazione della specie.

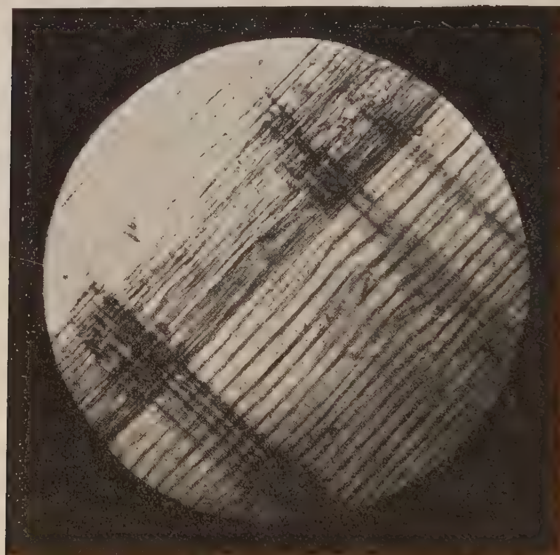


Fig. 5. — Sezione longitudinale radiale di legno di Abete.

La carbonizzazione, limitata esclusivamente alle essenze di latifoglie, mentre tutti i legni rimasero nelle stesse condizioni, mostra che le conifere presentarono una speciale e vittoriosa resistenza agli agenti che operarono il fenomeno.

Come è noto, il processo di riduzione che le sostanze organiche vegetali subiscono negli strati profondi del terreno o della melma delle paludi e dei laghi è dovuto alla attività di microrganismi anaerobi, che i varî Autori hanno creduto di chiamare con nomi diversi (*Micrococcus petrolei*, *M. lignitum*, *M. carbo*, *Anthracomyces cannellensis*, ecc. ecc.):

nel caso della nave di Nemi è probabile che questi od altri microrganismi, anche funghi, per condizioni che si potranno ulteriormente stabilire, non abbiano potuto attaccare il legno delle conifere, forse per più lungo tempo preservato dalla resina in esso contenuta, ed abbiano invece, con

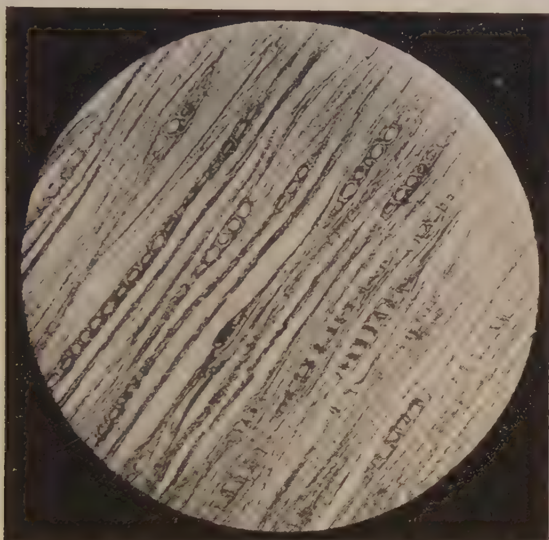


Fig. 6. — Sezione longitudinale tangenziale di legno di Abete.

maggior facilità, agito sulle sostanze costituenti il legno delle dicotiledoni. Il risultato del fenomeno è che il legno in questione si presenta come una lignite nera opaca che però conserva ancora, in alcuni casi, relativamente bene la sua struttura.

Nelle figure 7, 8 e 9 si vedono sezioni trasversali e longitudinali di una delle essenze, tali sezioni furono eseguite a mano con rasoio perchè risultò impossibile ottenere col disco smerigliato delle sezioni utili. Mentre ad occhio nudo la struttura macroscopica di questo legno, specie per quello che riguarda gli anelli legnosi, trarrebbe in inganno simulando il tipo del castagno, nella sezione microscopica tra-



Fig. 7. — Sezione trasversale di legno carbonizzato di *Quercus peduncolata.*



Fig. 8. — Sezione longitudinale radiale di legno carbonizzato di *Quercus peduncolata.*

sversale, per la presenza di alcuni raggi midollari piccoli di una sola serie di cellule e di altri molto grandi e per l'esistenza di ampi vasi della zona precoce degli anelli, si potè stabilire trattarsi del genere *Quercus* e con probabilità della *Q. peduncolata.*

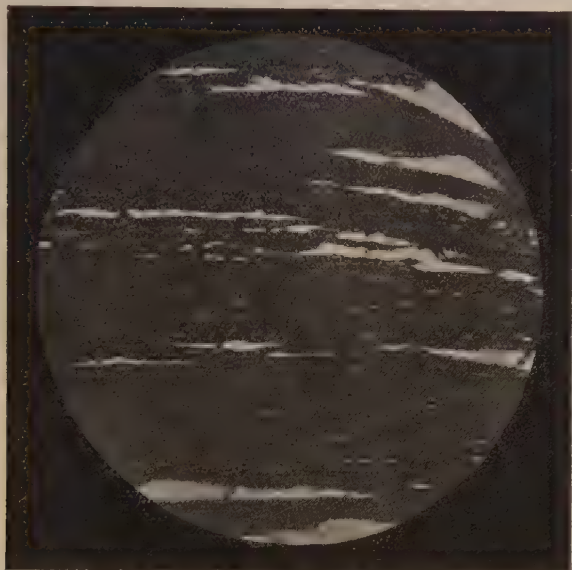


Fig. 9. — Sezione longitudinale tangenziale di legno carbonizzato di *Quercus peduncolata.*

L'altra essenza, di cui la fig. 10 mostra la sezione trasversale, è molto simile alla precedente ed appartiene anche essa al genere *Quercus*; tuttavia la presenza di numerose fibre a parete fortemente ispessita, di cui alcune ancora perfettamente conservate, fa supporre che si tratti di specie diversa dalla prima e che ha notevoli somiglianze con *Quercus sessiliflora.*

Data la lunga permanenza in acqua del legname della nave di Nemi, ho ritenuto interessante indagare quali differenze potessero essersi verificate nei valori del peso specifico rispetto a quelli del legno attuale; naturalmente questa ricerca è stata

effettuata solo per quelle essenze che non subirono il fenomeno della carbonizzazione e cioè per il *Pinus* e per l'*Abies*. Parecchie determinazioni furono fatte per il *Pinus* di cui disponevo di diversi campioni, ed in tutte è risultato un peso specifico alquanto inferiore al normale legno secco.

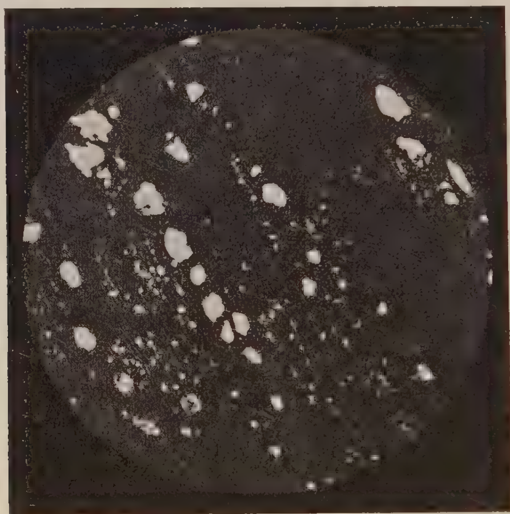


Fig. 10. — Sezione trasversale di legno carbonizzato di *Quercus sessiliflora* in cui sono visibili numerose fibre a parete ispessita e rifrangente.

I campioni inviati o prelevati da me, che avevano già perduto la maggior parte dell'acqua di cui erano imbevuti, furono lasciati alla temperatura del laboratorio per circa due mesi, al termine dei quali, perfettamente secchi, furono misurati. I vari saggi pel pino dettero valori oscillanti fra un peso specifico di 0,575 e di 0,686, con una media di 0,625, di poco inferiore a quello dato pel nostro legno secco che è di circa 0,650. Per l'abete pochi furono i saggi che dettero una media di 0,390, anche questa inferiore a quella del legname attuale secco, oscillante intorno a 0,410.

Le ricerche microchimiche ebbero per iscopo di stabilire quali dei principali composti organici, comunemente riconoscibili nel legno, si fossero conservati ben visibili e quali avessero subìto modificazioni o fossero stati asportati, e ciò anche per vedere quali probabilità teoriche vi potessero essere per l'attacco dei funghi xilofagi. Fu eseguita quindi la ricerca della lignina, della cellulosa e delle sostanze pectiche.

Per la lignina furono adoperati due reattivi specifici: la soluzione alcoolica di fluoroglucina e acido solforico, e la soluzione di solfato di anilina. Tutte le sezioni dei legni che non subirono la carbonizzazione appartenenti ai vari campioni (più o meno danneggiati) hanno dato reazione positiva e cioè una energica e generale colorazione rossa col primo reattivo e colorazione gialla col secondo; il che dimostra che la lignina si è perfettamente conservata nel *Pinus* e nell'*Abies*.

La reazione della cellulosi pura nelle conifere si ottiene negli elementi dei raggi midollari e nelle cellule parenchimatiche che limitano i canali resiniferi. La ricerca di questa sostanza nei legni di Nemi è stata fatta col reattivo più comunemente usato, il cloroioduro di zinco, e con lo jodo-joduro di potassio ed acido solforico. Mentre con quest'ultimo reattivo molto difficilmente furono potute osservare traccie di cellulosa, col cloroioduro di zinco in molte sezioni di frammenti non troppo alterati ottenni una pallida colorazione bleu-violetta che dimostra la presenza di traccie di cellulosa che invece era completamente sparita in altri frammenti prelevati da porzioni dello scafo che più mostravano i danni della lunga sommersione.

Anche facendo bollire a lungo frammenti di legno in potassa caustica e facendo in seguito la reazione della cellulosa non si ha una colorazione troppo intensa; per cui paragonando i risultati ottenuti dal legno di Nemi con quelli avuti dal legno attuale si può affermare che buona parte della cellulosa è stata alterata e trasformata in ambedue le conifere, ma in modo particolare nell'abete.

Per mettere in evidenza le sostanze pectiche (pectina, pectati ecc.) fu impiegata la soluzione acquosa di rosso di rutenio; la reazione colorata rosso-vinoso è avvenuta egregiamente, seppure non troppo intensamente, tanto nel pino quanto nell'abete, ed ha messo bene in evidenza sia la lamella mediana sia il toro delle areolature, ispessito ma non impregnato di altre sostanze; per cui si può dedurre che le sostanze pectiche non hanno subìto importanti alterazioni. Un fenomeno molto interessante che si nota in molti campioni di *Pinus* ed *Abies*, nelle sezioni trasversali, è il distacco quasi completo delle membrane secondarie lignificate dalla lamella mediana; in questi casi, che si verificano esclusivamente nei tracheidi d'autunno, la lamella mediana isolata si colora bene col rosso di rutenio ed è visibile ancora più facilmente che nelle sezioni longitudinali.

*
* *

Il liquido preservativo usato, chiamato *Ecozid*, ci fu fornito dalla Casa fabbricante pel tramite del R. Addetto commerciale d'Italia a Berlino. Secondo quanto è detto dallo stesso Sig. Glawe, l'*Ecozid* non agisce solamente in quanto imbeve il legno, ma ha un'azione molto più duratura per il fatto che esso dà, coi componenti del legno, un composto chimico fisso nel quale la sostanza preservatrice risulta essere il nitrito di argento.

L'azione dell'*Ecozid* come fungicida fu esperimentata con due ordini di esperienze: primo, ponendo a germinare spore di varî funghi in goccia pendente formata da soluzioni di *Ecozid* a diverse concentrazioni; secondo, trattando il legno in diverse maniere e poi trapiantandovi pezzi di colture di funghi xilofagi e precisamente di *Coniophora cerebella* e di *Polyporus vaporarius*.

Per le esperienze di germinazione, mancandomi spore di funghi xilofagi, utilizzai conidii di *Fusarium* sp., *Botrytis cinerea*, *Cladosporium herbarum* e *Acrostalagmus cinnabarinus*.

Le goccie pendenti delle diverse serie di prove erano formate da soluzioni di *Ecozid* sempre meno concentrate, a partire dalla percentuale consigliata pel trattamento del legno, cioè del 7 %. Furono così allestite serie con concentrazioni del 7 %, 5 %, 2,50 %, 1 %, 0,50 %, 0,25 %, 0,125 % e 0,01 %; parallelamente furono istituiti controlli con goccie pendenti di acqua distillata e con spore degli stessi funghi. Debbo dire senz'altro che tutte le concentrazioni dal 7 % al 0,125 % impedirono sempre e per tutti i funghi in esperimento qualsiasi germinazione, mentre parallelamente questa avveniva più o meno completa nei conidii di controllo. La percentuale del 0,01 % ha permesso la germinazione del solo *Fusarium* fra tutti i funghi sperimentali. Queste esperienze provano il relativamente forte potere funghicida dell'*Ecozid* che è stato anche confermato dalle prove successive.

La seconda serie di esperienze, quella sul legno, fu eseguita su provini trattati con *Ecozid* e comparativamente su provini di controllo e su provini trattati con sublimato.

Debbo premettere che, pur esistendo sempre il pericolo di danni e deterioramenti del legname della nave per opera di funghi xilofagi, tale pericolo non è tuttavia gravissimo data la composizione attuale del legno in cui, come è stato dimostrato dalle ricerche microchimiche su esposte, è grandemente ridotta la quantità di cellulosa che costituisce il primo e più facilmente utilizzabile elemento nutritizio di questi funghi. Dato però il grande interesse storico e archeologico del legno in questione e tenuto presente che i funghi xilofagi oltre ad enzimi del tipo della cellulasi producono anche enzimi cito-idrolitici del tipo della pectinasi, della ligninasi ecc., ritengo utile consigliare un trattamento preventivo e indicare quello che fu tentato in laboratorio.

Tra le numerose prove eseguite riporterò solo i risultati di quelle che sembrano più dimostrative. Innanzi tutto, come saggio preliminare, inoculai un pezzo di abete senza alcun trattamento con una porzione di coltura di *Coniophora cerebella* e ciò per constatare sperimentalmente se l'ipotesi

della difficoltà di attecchimento dei funghi per la povertà del substrato fosse attendibile o no. Dopo circa due mesi dall'inoculazione (1) il fungo ha prodotto una limitata area d'infezione la quale è ben lungi dal mostrare la gravità che si osserva sui legni normali e che io stesso ottenni su un pezzo di abete normale inoculato per controllo, contemporaneamente, con lo stesso fungo. Al termine del periodo di due mesi furono fatte sezioni microscopiche del provino in corrispondenza dell'area micelica, e fu potuto constatare che le ife erano assolutamente superficiali e non invadevano affatto la parte profonda del legno, per cui la preventiva ipotesi veniva in gran parte confermata.

Per i trattamenti con la sostanza preservante fu escluso senz'altro il metodo dell'immersione che risultava inapplicabile praticamente per l'enorme mole dello scafo, e fu invece eseguito in laboratorio il metodo della irrorazione con un comune spruzzatore, metodo che può con facilità essere tradotto in pratica ed in grandi proporzioni con le pompe irroratrici. Furono quindi con l'*Ecozid* eseguite le seguenti esperienze coi seguenti risultati:

1.° Due spruzzamenti con soluzione di *Ecozid* al 7 % su provini di *Pinus*, *Abies* e *Quercus* eseguiti in modo che i legni fossero perfettamente asciutti del liquido del primo trattamento all'atto del secondo. Dopo essiccamento furono trasportate sui provini porzioni di coltura di *Coniophora cerebella* e *Polyporus vaporarius*; i funghi non dettero più alcuno sviluppo e morirono immediatamente.

2.° Un solo spruzzamento eseguito come sopra e inoculazione del fungo. Anche in questo caso morte immediata del micelio.

3.° Due spruzzamenti come sopra a distanza di 24 ore seguìti da dilavamento in acqua corrente per circa 14 ore

(1) Le inoculazioni furono eseguite mettendo i provini di legno, trattati o no, in grossi tubi di vetro contenenti al fondo uno strato di sabbia umida, tutto preventivamente sterilizzato. Ringrazio vivamente il Chiar.mo Dott. Breazzano dell'Istituto sperimentale delle Ferrovie dello Stato per avermi fornito le colture dei due funghi xilofagi adoperati in queste esperienze.

e poi inoculazione dei funghi. Come nei casi precedenti anche in questa prova si ebbe la morte immediata del micelio senza ripresa di vegetazione.

4.° Un solo spruzzamento e, dopo perfetto asciugamento, dilavamento per circa 14 ore in acqua corrente. Morte del micelio senza ripresa di vegetazione su *Abies*, leggerissimo sviluppo presto arrestato su *Pinus*, produzione di lieve feltro micelico su *Quercus* (essenza carbonizzata).

5.° Un solo spruzzamento, come sopra, e, dopo perfetto asciugamento, dilavamento per circa 24 ore in acqua corrente. In questa prova si ebbe, dopo una settimana circa, un leggero sviluppo micelico che è andato man mano aumentando producendo colonie di una certa ampiezza, ma con ife a decorso esclusivamente superficiale.

In nessuna inoculazione, nemmeno fra le più vecchie di circa tre mesi, si ebbe produzione di corpi fruttiferi.

Come esperienza comparativa, furono eseguiti spruzzamenti di altri provini con soluzione di sublimato corrosivo all'1 ‰. Alcune delle esperienze eseguite furono le seguenti:

1.° Prove con due spruzzamenti con sublimato all'1 ‰ seguìti da dilavamento in acqua corrente per circa 14 ore.

2.° Prove con uno spruzzamento con sublimato all'1 ‰ seguìto da dilavamento in acqua corrente per circa 14 ore.

Data la corrispondenza di trattamento di queste prove con i n. 3 e 4 delle prove con *Ecozid*, posso affermare che i risultati ottenuti col sublimato non furono soddisfacenti in quanto i funghi inoculati sui provini si svilupparono rigogliosamente tutti dopo solo tre o quattro giorni.

La tavola annessa rappresenta le due serie di prove descritte al n. 4 per l'*Ecozid* e al n. 2 per il sublimato, con la sola differenza che i provini in alto (trattati con *Ecozid*) furono fotografati dopo 15 giorni dall'inoculazione del fungo, e i provini in basso (trattati con sublimato) erano stati inoculati solo 5 giorni prima.

Non ostante la differenza di tempo si vede chiaramente dalla fotografia che i provini trattati con sublimato hanno fatto rigogliosamente sviluppare i funghi trapiantati, mentre sui provini trattati con l'*Ecozid* il fungo si vede svi-

luppato in lieve misura solo sul primo provino in alto a sinistra che è di quercia carbonizzata.

Un'altra deduzione che ho potuto fare in seguito a queste esperienze è che l'abete trattato con l'*Ecozid* a parità di condizioni con gli altri legni è più resistente ai funghi xilofagi e che le due essenze carbonizzate hanno in ogni caso mostrato di essere un substrato più adatto tanto per la *Coniophora* quanto pel *Polyporus*.

Nei riguardi dei trattamenti preservativi posso pertanto concludere che l'azione dell'*Ecozid* è molto efficace specialmente se si pensa che il legname della nave, dopo trattato, non subirà certamente un dilavamento così intenso come quello eseguito per le prove di laboratorio, mentre non sarebbe, a questo scopo, ugualmente consigliabile il trattamento con sublimato.

CESARE SIBILIA.

LAVORI CONSULTATI.

1. — BUB BODMAR F. und TILGER B., *Die Konservierung des Holzes in Theorie und Praxis*. Paul Parey, Berlin 1922.
2. — HAUG E., *Traité de Geologie*, vol. I. Paris 1907.
3. — PARONA C. F., *Trattato di Geologia*, 2.ª edizione, Vallardi, Milano 1924.
4. — PICCIOLI L., *Tecnologia del legno*. Unione tip. edit. torinese. Torino 1919.
5. — *Rendiconto della Nona riunione dell'Associazione italiana per gli studi sui materiali da costruzione*. Proposte di Norme tecniche, pagg. 165-168. Tip. Vincenzo Bona, Torino, 1922.
6. — RHOADS A. S., *The biology of Polyporus pargamenus* Fries. Technical publication n. 11 of the New-York State College of Forestry at Syracuse University, vol. XVIII, n. 5, 1918.
7. — STONE H., *The timbers of commerce and their identification*. London 1905.

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA.

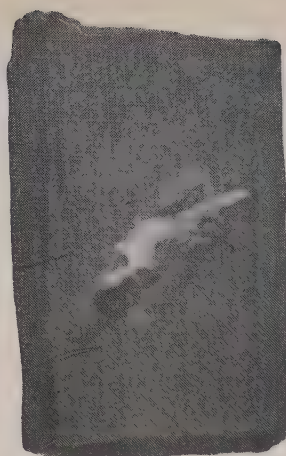
Figure 1, 2 e 3 provini di *Quercus*, *Pinus* e *Abies* trattati con *Ecozid* e fotografati dopo 15 giorni dall'inoculazione. Nelle figure 1 e 2 si nota una lievissima ripresa di vegetazione del fungo subito però arrestata; nella figura 3 (inoculazione con *Coniophora* e *Polyporus*) non si vede alcuno sviluppo dei funghi.

Figure 4, 5 e 6 provini di *Quercus*, *Pinus* e *Abies* trattati con *Sublimato* e fotografati dopo 5 giorni dall'inoculazione. Su tutti i provini il fungo inoculato si sviluppò rigogliosamente e seguitò a crescere anche dopo la fotografia.





1



2



3



4



5



6

Intorno a una malattia delle foglie di *Thea sinensis*

Nelle ricerche delle diverse infezioni che danneggiano la coltivazione di *Thea sinensis*, la quale vegeta rigogliosa da circa 40 anni nell'Orto Botanico di Pavia, oltre ai vari e nuovi micromiceti descritti in un precedente lavoro [**3**], ho riscontrato, con una certa frequenza e in alcune annate con danni abbastanza sensibili, macchie fogliari causate da un fungillo che, per quanto non nuovo alla scienza, meritava di essere seguìto nel suo sviluppo per precisarne la posizione sistematica e il parassitismo.

Caratteri della malattia.

La malattia che forma oggetto di questo lavoro non è stata mai descritta; essa interessa — almeno per ora — soltanto le foglie della pianta, sulle quali si manifesta con macchie di secco per lo più marginali, che dapprima si presentano di color cioccolata e poi divengono sempre più chiare fino ad essere albescenti, a causa del distacco e della lacerazione dell'epidermide, per avanzata alterazione dei tessuti, determinata più che altro da varî micromiceti di penetrazione secondaria, semi parassiti o anche saprofiti.

Le macchie incominciano a svilupparsi quasi sempre dai denti del margine delle foglie; raramente si osservano infezioni iniziali nel mezzo del lembo e in questo caso quasi sempre hanno origine da piccole tumefazioni prodotte da punture di insetti o di altra natura. Esse sono ampie, di 1-3 cm. di diametro, sparse e non numerose; generalmente non si osservano foglie con più di due o tre macchie. Nelle foglie adulte appaiono senza un contorno distinto; ma nelle foglie giovani si rivelano invece con un' orlatura quasi sempre ben evidente; e in questo ultimo caso il

lembo che circonda la zona infetta presenta spesso delle sfumature violacee, non uniformi; non senza cioè un netto orlo cromatico come avviene in altre simili infezioni maculari.

Nelle foglie adulte inoltre le macchie sono più estese fino a interessare gran parte del lembo, senza peraltro alterare l'aspetto e il portamento della foglia; nelle foglie giovani invece esse sono più limitate e siccome il lembo sano continua a crescere, la foglia è costretta a formare delle pieghe attorno alle zone malate.

Questo leggiero arricciamento del lembo è anche in relazione col procedere dell' infezione, il quale è sempre relativamente lento e mai tale da estendersi alle parti sane della foglia prima ancora che essa possa sensibilmente accrescersi.

Lo sviluppo del lembo fogliare sembra costituire in questa malattia, se non un vero mezzo di difesa della pianta, una forza antagonistica contro l'avanzamento dell'infezione, la quale è rivelata da alcuni fenomeni che accompagnano e seguono l'attacco del parassita; cioè a dire: lo sviluppo minore e più lento delle macchie nelle foglie giovani in pieno sviluppo vegetativo anzichè in quelle adulte, la formazione di una zona di difesa più appariscente nelle prime che nelle seconde, e infine, molto probabilmente, un leggero acceleramento dello sviluppo nelle foglie infettate in confronto di quelle sane.

Non ho finora dati sperimentali numerosi e decisivi per confermare questo ultimo interessantissimo fenomeno che mi è parso di osservare durante le mie ricerche patogenetiche; ma, lo ritengo molto probabile, perchè alcune misurazioni sono venute a confermare quanto a prima vista mi era apparso. Prendendo infatti in esame la lunghezza e misurando giornalmente l'aumento di tale dimensione nelle giovani foglie, sane e ammalate ma sempre in ottime condizioni di vegetazione e infettate soltanto lateralmente ai margini senza che la zona malata interessasse la nervatura mediana, in più casi mi è risultato nelle



Fig. 1. — Rametto di *Thea* con foglie attaccate dal parassita.
(Fot. dell'A., $^4/_5$ gr. nat.).

foglie attaccate dal parassita un accrescimento superiore a quello verificatosi nelle foglie completamente integre della medesima età e della medesima posizione.

Nel contrasto fra i due fenomeni antagonistici: accrescimento del lembo e avanzamento delle macchie nelle foglie in sviluppo, è quindi il primo che quasi sempre supera il secondo, e per questo, fin tanto che le foglie sono giovani, difficilmente il fungo arriva a formare macchie di secco molto estese; ma quando le foglie non si accrescono più, le macchie si estendono talora fino alla nervatura mediana, e allora le foglie avvizziscono e cadono e le piante subiscono una parziale defogliazione.

***

La malattia ha molta rassomiglianza con quella prodotta dalla *Ramularia theicola* Curzi [3], la quale causa nelle foglie di tè macchie non tanto diverse da quelle prodotte da questo fungo, ma che si possono distinguere anche senza ricorrere all'esame microscopico.

Le macchie causate dalla *Ramularia theicola* sono vaghe, più piccole, ma più numerose, e confluenti in modo da costituire così macchie molto estese, a bordo sinuoso, interessante gran parte del margine e dell' apice della foglia: esse non sono mai delimitate da bordo e non presentano alcun cenno di zonazione che leggermente appare nelle infezioni di questo fungo. Inoltre, osservando con la lente le alterazioni causate dalle due malattie, le fruttificazioni della *Ramularia* risultano sparse irregolarmente, e in ambiente molto umido appaiono sotto forma di candidi cespugli, per l' abbondante conidificazione; mentre quelli causati da questo micete si presentano in natura sotto l'aspetto di minuti puntini neri, non tanto diversi da quelli della *Ramularia*, ma tendono però a seguire piuttosto una disposizione concentrica, e in ambiente opportunamente umido non sono mai candidi come quelli della mucedinea, ma sempre quasi alutacei per il colore speciale della massa delle spore che li ricoprono.

Caratteri del parassita.

Il micelio che invade i tessuti fogliari è sempre leggermente olivaceo, e risulta costituito di ife settate e variamente ramificate, di calibro piuttosto uniforme e piccolo, misurando 1, 5-2,5 µ di diametro. Esso forma, fra l'epidermide e il tessuto a palizzata, dei piccoli stromi olivaceo-scuri che poi erompono verso l'esterno, sollevando e lacerando l'epidermide nella pagina superiore (fig. 2).



Fig. 2. — Pseudosporodochio del parassita, × 300. (C. l. Abbe-Apathy, Zeiss oc. 3, obb. C.).

Questi stromi che costituiscono la base delle fruttificazioni del fungo sono dapprima appiattiti e sommersi, e poi sporgenti come piccoli tubercoli di 20-50 µ di diametro. Al disopra di essi compaiono ben presto i conidi, che si originano dall'estremità delle ife della parte superiore dello stroma, parallelamente collegate e fuse assieme, le quali sovente si allungano e divergono, costituendo brevi conidiofori olivacei, con l'apice quasi ialino, semplici e diritti, o flessuosi e con qualche geniculatura (fig. 3).

I conidi sono cilindrici o leggermente attenuati all'apice, prima ialini e poi olivacei, falcati o più o meno curvi, esili, con parete sottile e con setti non sempre ben distinti (fig. 7).

In natura e nelle condizioni ordinarie i conidi non sono tanto numerosi, e quei pochi che si osservano al disopra degli stromi sono molto variabili nelle dimensioni e nell'aspetto: sono cilindrici, ondulati e con un numero di

setti oscillante da 2 a 5, come dai seguenti dati, risultanti da un certo numero di misurazioni dei conidi trovati nei

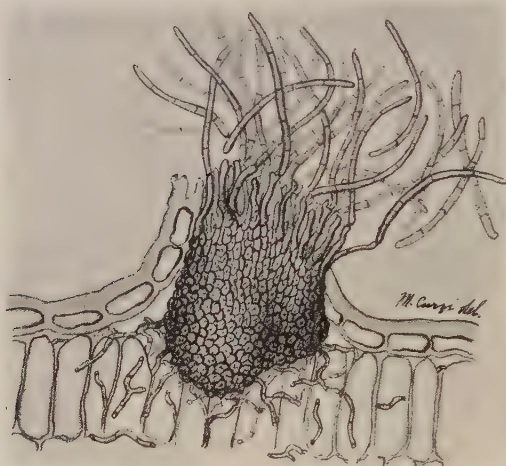


Fig. 3. — Pseudosporodochio del parassita su foglia mantenuta in camera umida, × 300.
(C. l. Abbe-Apàthy, Zeiss oc. 3, obb. C.).

preparati fatti con foglie malate appena raccolte dalle piante:

2	settati,	40-50 × 2-2,25 μ,	13 %;
3	»	55-58 × 2-2,25 μ,	30 %;
4	»	40-62 × 2-2,5 μ,	37 %;
5	»	55-70 × 2,25-2,5 μ,	20 %.

In ambiente costantemente umido, come sotto campana, le spore sono più uniformi e costanti nei caratteri. Si presentano quasi sempre falciformi, leggermente attenuati verso la cellula apicale, con i setti più distinti, nella maggioranza in numero di cinque, come si può constatare dai

dati che seguono, riguardanti diverse misurazioni di conidi sviluppatisi in camera umida:

4	settati,	55-65 × 2-2,5 μ,	10 %;
5	»	55-75 × 2-2,5 μ,	82 %;
6	»	70-75 × 2,25-2,5 μ,	6 %;
7	»	75 × 2,5 μ,	1 %;
9	»	80 × 2,5 μ,	1 %.

Dal confronto di questi dati con i precedenti, si scorge facilmente l'influenza dell'ambiente sulla sporificazione. In natura, in condizioni variabilissime di umidità atmosferica, la settazione e le dimensioni dei conidi sono molto variabili, senza netta prevalenza di un dato tipo di spore che ci possa rivelare lo sviluppo più normale e tipico della specie: in camera umida invece, e cioè in aria costantemente satura di umidità, si ha un assoluto predominio dei conidi cinque settati, assenza di quelli due e tre settati, e presenza di alcuni conidi con sei e più setti fino a nove.



Fig. 4. — Conidi in germinazione, × 980.
(C. l. Abbe-Apàthy, Zeiss oc. 4, obb. E).

Le spore, poste in acqua o in una soluzione nutritiva, germinano facilmente, con emissione di tubi micelici specialmente dalle cellule estreme, mentre le cellule mediane

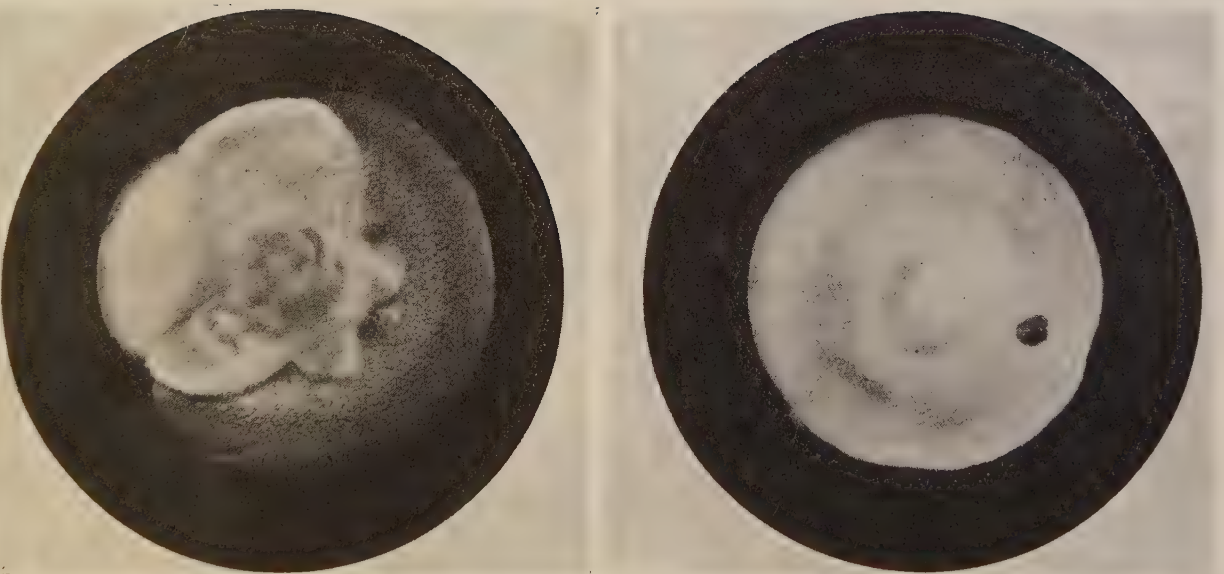


Fig. 5. — Colonie del parassita su infuso di *Thea* glucosato (3 %) e agarizzato, dopo 28 giorni a 15° C, derivate dal trapianto di una coltura monoconidica apparentemente uniforme.
(Fot. dell' A., gr. nat.).

rimarrebbero generalmente inerti e germinerebbero soltanto in caso di morte delle cellule apicali o in un tempo successivo, in caso di arresto di sviluppo, per una causa qualsiasi, del micelio sviluppato dalle cellule estreme. Il micelio emesso è sempre, come quello che si riscontra a invadere il mesofillo delle foglie, leggermente olivaceo, sottile e ricco di guttule oleose (fig. 4).

Se con opportuna tecnica si trasporta una spora di questo fungo in un agar nutritivo, si sviluppa una colonia ad accrescimento molto lento, ma densissima, e costituita di un ammasso di micelio sterile, grigio-olivaceo, che arriva in alcuni terreni anche a qualche centimetro di spessore (fig. 5).

Nelle colture il fungo può dare luogo a diverse forme di variazione settoriale, con uno sviluppo del micelio aereo assai variabile, come si può vedere nella colonia complessa della Fig. 5, derivata dal trapianto del micelio di una cultura monospora identica all'altra coetanea a destra apparentemente uniforme. Nella colonia complessa si distinguono tre forme: l'una, che è la più comune e la più normale, con micelio aereo più abbondante e più rado, è rappresentata dal settore inferiore; la seconda, un po' più depressa, leggermente zonata e con micelio più denso, dai due settori laterali; e la terza, con micelio aereo quasi assente, dal settore grande superiore. Nella prima forma, il micelio risulta costituito in prevalenza di ife sottili, molto guttulate, poco ramificate; nella seconda, da ife di dimensioni medie poco guttulate e molto ramificate; nella terza, da ife molto sottili e guttulate come nella prima forma, formanti però quasi dei fasci di ife striscianti sul substrato con ife grosse e frequentemente settate di un diametro circa tre volte superiore.

Tassonomia del parassita.

Dalla descrizione fatta, è facile stabilire che il parassita è un micromicete a caratteri intermedi fra i melanconiali e gli ifali, ma è difficile però precisare la sua posizione

sistematica in seno a uno di questi ordini di denteromiceti. Più che nel primo, esso rientra nel secondo ordine, sebbene presenti molti caratteri del genere *Phleospora* Wall.; lo stroma basale, l'aspetto delle spore, sono propri a questo genere di funghi; ma mentre nella *Phleospora* le spore hanno un' origine sotto epidermica, quali fruttificazioni acervulari da alcuni considerate anche picnidiche, nel mio fungillo la formazione delle spore avviene invece sempre dopo la rottura dell'epidermide per opera dello stroma basale che fuoriesce all'esterno come un piccolo sporodochio. D'altra parte, il fungo si avvicina anche al genere *Cercospora* Sacc. per i brevi conidiofori olivacei e le spore pure olivacee; ma nemmeno in questo genere il parassita non può rientrare, perchè i conidiofori non sono mai differenziati e possono anche mancare e le spore non hanno mai la parete relativamente spessa e i setti ben distinti come in quelle di *Cercospora.* Inoltre di questo genere di demaziacee i conidi hanno una grande facilità ad aumentare esageratamente la loro lunghezza e la loro settazione, in ambiente molto umido, come è stato osservato da me nella *Cercospora Camarae* Curzi [**2**], da Nannizzi nella *Cercospora palmivora* (Sacc.) Nann. [**10**] e da Wells [**17**] in diversissime specie del genere; in questo fungo, invece, molto difficilmente, anche dopo una lunga permanenza in camera umida, potrà riscontrarsi spore di lunghezza superiore a 70–80 μ e con più di cinque setti trasversali.

Nel 1919 Stevens e Dalbey [**15**] descrissero un genere di ifomiceti sotto il nome di *Septoriopsis* St. et Dalb., cambiato in seguito dal Petrak [**13**] in *Cercoseptoria* Petr. per esserci già dal 1915 il genere *Septoriopsis* G. Fragoso [**5**].

Certamente questo genere di transizione, che potrebbe a mala pena rientrare nella famiglia delle Tubercolariacee ove è stato collocato da Stevens e Dalbey, non ha una posizione ben definita e potrebbe considerarsi come una sezione del genere *Phleospora* ad acervuli sporgenti, e comprendere quelle specie di questo genere che tendono a presentare caratteri dei generi *Cercospora* Fres., *Cercospo-*

rella Sacc. e *Cercosporina* Speg.. Ma credo utile mantenere il genere *Cercoseptoria* per meglio differenziare il genere *Phleospora* dai generi *Cercospora, Cercosporella* e *Cercosporina,* certamente affini perchè tutti comprendono stadi di un unico genere di pirenonomiceti (*Sphaerella* Ces. et De Not.) ma molto diversi per sviluppo e per posizione sistematica.

Il genere *Cercoseptoria* conta finora un numero molto ristretto di specie, il quale potrebbe accrescersi, in seguito a una revisione delle specie dei generi affini; a nessuna di queste può riferirsi il fungillo del tè. Anche nei generi *Phleospora, Cercospora, Cercosporella* e *Cercosporina* ci sono specie da riportarsi a *Cercoseptoria* che potrebbero confondersi col parassita; in queste non può certo rientrare la *Cercospora Theäe* V. Breda [**16**] la quale produce sulle foglie della pianta macchie piccole e rotonde, fruttificando con conidiofori ben sviluppati e tipici del genere, con spore clavate, ialine, misuranti 120-140 μ di lunghezza e aventi 5-8 setti trasversali [**14**]; e non può nemmeno lontanamente comprendersi la *Cercosporella theicola* Pet. [**11-12**], parassita polifago del tè e di altre piante nel Ceylon il quale, secondo Gadd [**6-7**], svilupperebbe nelle colture artificiali anche lo stadio ascoforo.

Stando così le cose, avrei con sicurezza descritto una specie nuova di *Cercoseptoria,* se i caratteri dei conidi non mi avessero condotto a sospettare l'identità del mio fungo con la *Septoria Theae* Cav. (1).

---

(1) Nel Saccardo (*Sylloge Fungorum*, vol. X, pag. 353) questo fungo è stato riportato con la diagnosi originale della *Discosia Theae* Cav. Trattasi evidentemente di un errore di trascrizione facile a riconoscersi. Con tutto ciò però esso è stato oggetto di errori grossolani da parte di alcuni Autori. Così, l'Allescher (Babenh. Kryptog. Flora VI, Abt. (*Fungi imperfetti*), pag. 868), riporta pure questa *Septoria* con la diagnosi della *Discosia* della *Sylloge* tradotta in tedesco; e lo Speschnew [**14**], rinvenendo la *Discosia Theae* nel Caucaso, la determina per *Septoria Theae* e sotto tale nome la descrive e la raffigura. E trattasi di due micromiceti tanto differenti, appartenenti peraltro a ordini e famiglie ben diversi; figuriamoci se l'errore fosse accaduto nella trascrizione di due specie molto più affini e vicine!.

L'esame di una foglia del materiale originale del Cavara mi ha confermato questa supposizione, la quale del resto appare anche evidentè, se non dalla breve diagnosi, dalle figure originali in cui la specie venne disegnata dall'Autore.

In tale illustrazione le spore hanno una lunghezza superiore al diametro dei picnidi; questi inoltre sono disegnati interi e per quanto nel disegno lascino intravedere un ostiolo con spore uscenti dall' interno, corrispondono perfettamente agli stromi scleroziali che si rinvengono costantemente nelle foglie infette cadute a terra, i quali derivano dai gangli stromatici che formano la base delle fruttificazioni conidiche, e costituiscono l'inizio di fruttificazioni più evolute del fungo (fig. 6). Essi però, in condizioni molto varie, nelle foglie lasciate sul terreno e su sabbia umida, o poste alternativamente in ambiente umido e asciutto, hanno aumentato di volume, hanno perduto ogni traccia di conidiofori, ma non hanno mai dato luogo a picnidi nè a un inizio di differenziazione periteciale; mentre possono, in condizioni opportune, generare nuovi conidi dalla parte superiore libera.

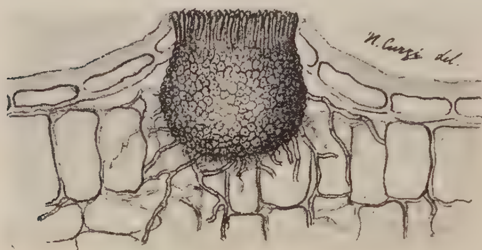


Fig. 6. — Stroma scleroziale di pseudosporodochio su foglia caduto a terra, × 300. (C. l. Abbe-Apàthy, Zeiss oc. 3, obb. C).

Non mi sembra di mancare di rispetto all' illustre botanico dell' Università partenopea, da poco mancato alla Scienza, se aggiungo che le spore da lui disegnate non potevano assolutamente essere generate da picnidi relativamente molto piccoli, e tanto meno poi da picnidi di *Septoria*, non essendo nemmeno ialine.

Inoltre osservate attentamente le spore di questo fungo

non hanno gli estremi identici come generalmente presentano le specie di *Septoria*; ma, per quanto sub-cilindriche, sono sempre, a completo sviluppo, leggermente assottigliate verso l'apice e talora un po' ingrossate alla base (fig. 7).

Il Cavara rinvenne il micete su foglie cadute a terra; egli non parla di macchie e di parassitismo, e per questo il fungillo non era stato considerato finora come parassita [4]. Infatti, nelle foglie cadute a terra le macchie di infezione non sono sempre distinguibili, mentre il parassita, favorito dall' umidità del suolo, tende a espandersi, a invadere quasi tutto il lembo fogliare, e a sviluppare lo stroma basale delle fruttificazioni e i conidi dagli estremi superiori delle ife che costituiscono lo stroma, funzionanti da rudimentali conidiofori, in modo che a prima vista potrebbero benissimo scambiarsi con spore uscenti da un picnidio.

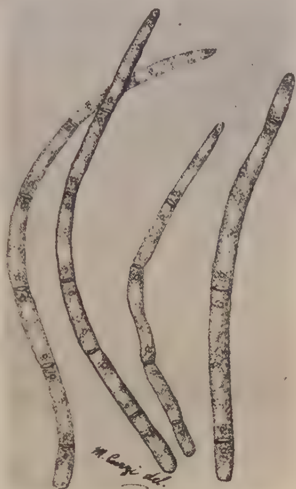


Fig. 7. — Conidi del parassita, × 980. (C. l. Abbe-Apathy, Zeiss oc. 4, obb. E).

Dopo quanto sopra ho esposto, credo di poter concludere che il micete il quale causa la malattia del tè da me descritta corrisponde perfettamente a quello pubblicato dal Cavara nel 1889 col nome di *Septoria Theae*; esso non è che un ifomicete del genere *Cercoseptoria* Petr., al quale lo riporto, chiamandolo *Cercoseptoria Theae* (Cav.) n. comb.

Infezioni artificiali.

Nelle inoculazioni mi è stato possibile riprodurre artificialmente la malattia con i conidi tolti dalle macchie di infezione delle foglie. Per questo, da alcune foglie malate poste in camera umida, alla temperatura ambiente di circa 15° C., toglievo dopo qualche giorno le spore che ponevo in acqua, raschiando il lembo cosparso delle fruttificazioni

del parassita a mezzo di una lancettina. Con la sospensione acquosa dei conidi così preparata, praticavo poi le inoculazioni, ponendo con una bacchettina gocce di liquido nelle diverse parti del lembo di foglie completamente sane, mentre altre venivano trattate nella medesima guisa con acqua sterile.



Fig. 8. — Foglie di *Thea* infettate artificialmente con la *Cercoseptoria Theae,* dopo circa un mese dall'inoculazione. (Fot. dell'A., $^5/_6$ gr. nat.).

Nel settembre 1927 le prove di inoculazione così fatte, in alcune giornate umide e tali che le gocce del liquido di inoculazione rimanevano un po' più a lungo su le foglie,

sono riuscite dopo un mese con circa il 50 % di foglie infette e con il 24 % d'attacco di tutti i punti di inoculazione; ma nei giorni non tanto umidi, l'infezione era sempre rara e sporadica e spesso falliva anche del tutto.

Delle diverse parti della foglia, l'apice era il più recettivo, e poi i margini; non mi è mai riuscito di ottenere artificialmente l'inizio di macchie d'infezione nella parte centrale del lembo, per quanto praticassi anche delle piccole ferite con una lancettina, allo scopo di favorire la penetrazione del micelio.

Con il micelio ottenuto in coltura non ho mai potuto riprodurre la malattia nelle foglie e infettare i giovani rametti con le inoculazioni subcorticali. Sotto questo riguardo, il parassita viene a comportarsi come altri ifomiceti simili, i quali, nelle culture artificiali, perdono facilmente la loro virulenza; così l'Higgins [8], colla *Cercospora Vitis* (Lév.) Sacc. e colla *Cercospora bolleana* (Th.) Speg. ha ottenuto sempre la riproduzione delle corrispondenti malattie sulla vite e sul fico con le spore, e mai col micelio che questi funghi sviluppano nei substrati artificiali.

La malattia in relazione ad altre infezioni fogliari.

La malattia prodotta dalla *Cercoseptoria Theae* è una delle più dannose nella coltivazione di *Thea sinensis* di Pavia, ma non però in tutti gli anni e in tutte le stagioni. Nel 1926 mi è apparsa rarissima e sporadica, mentre nell'anno successivo è stata molto diffusa e frequente, specialmente alla fine dell'estate e all'inizio della stagione autunnale; nel 1928 poi era quasi scomparsa e si è ripresentata dannosa l'anno dopo, ultimo scorso, su foglie di giovani germogli sviluppati dalle piante che erano state fortemente danneggiate dal rigido inverno precedente.

Spesso però la malattia è presente più di quanto potrebbe sembrare, per essere mascherata da altre infezioni

che sopraggiungono dopo sulle medesime macchie. Queste infezioni secondarie sono causate da altri micromiceti, pure parassiti, ma molto meno virulenti, come la *Phomopsis theicola* Curzi, la *Phyllosticta Theae* Spech., l'*Ascochytella theicola* Curzi, ecc. [3], e mai si osserva il fenomeno inverso e cioè che l'infezione di *Cercoseptoria* possa riscontrarsi o iniziarsi su macchie di altri funghi.

La *Phomopsis theicola*, che è il fungo più frequente e più diffuso in quelle piante di tè, si ritrova frequentemente a invadere i tessuti della foglia già uccisi dalla *Cercoseptoria,* e a superare poi i limiti di infezione di questo fungo, distruggendo ogni traccia dell'infezione precedente: e per questo, in certi periodi, mi è sembrato di riscontrare una infezione estesa di *Phomopsis* e sporadica di *Cercoseptoria,* mentre in realtà quest' ultimo parassita era molto diffuso.

Infatti, la *Phomopsis theicola* sembra che non riesca a penetrare da sola nel lembo sano della foglia. Nelle inoculazioni artificiali, con le spore di questo fungo non mi è stato mai possibile infettare, nelle piante all'aperto, le foglie completamente sane, pur creando al fungo un ambiente umido favorevolissimo al suo sviluppo [3]; ma nelle foglie infettate dalla *Cercoseptoria* si aveva facilmente l'infezione, specialmente all'apice, con la formazione di una nuova macchia su quella già esistente, la quale pian piano veniva a estendersi anche alla porzione sana del lembo che direttamente non era riuscita a penetrare, superando e mascherando spesso interamente le macchie dell' infezione primaria.

E così, mentre non ho mai osservato infezioni iniziali di *Phomopsis* su apici fogliari completamente sani non invasi da miceti patogeni e non danneggiati da gravi perturbazioni nella normale circolazione dell' acqua, come il Montemartini [9] ha sapientemente dimostrato nell'essiccamento apicale delle foglie degli eucalipti, molto raramente mi è capitato di riscontrare macchie pure di *Cercoseptoria* non invase dalla *Phomopsis* all'apice delle foglie, ove que-

st'ultimo, quale parassita debole e udofilattico, trova le condizioni più favorevoli per svilupparsi.



Fig. 9. — Foglia di *Thea* infettata artificialmente prima con la *Cercoseptoria Theae* e poi con la *Phomopsis theicola*. (Fot. dell'A., $^5/_6$ gr. nat.).

Conclusioni.

Le ricerche fatte su questa nuova malattia di *Thea sinensis* si possono riassumere come segue :

1. — La malattia si manifesta specialmente nelle stagioni umide con macchie di secco di 1–3 cm. di diametro,

le quali sono generalmente marginali, e raggiungono talora la nervatura mediana, determinando la caduta delle foglie.

2. — Le macchie d'infezione incominciano a svilupparsi quasi sempre dai denti del margine delle foglie; raramente si osservano infezioni iniziali nel mezzo del lembo, e in questo caso quasi sempre hanno origine da piccole tumescenze prodotte da punture di insetti.

3. — Nelle foglie adulte, le macchie appaiono senza un contorno distinto, mentre in quelle giovani sono leggermente zonate e sono circondate dal lembo sano un po' arricciato.

Nelle foglie in pieno sviluppo vegetativo, l'infezione marginale sembra eccitare, all'inizio, l'accrescimento del lembo.

4. — Il parassita corrisponde al micromicete descritto nel 1889 su foglie di tè cadute a terra, e chiamato impropriamente *Septoria Theae* Cav., pur non avendo le spore ialine e alcuna traccia di fruttificazione picnidiale. Esso è un ifomicete del genere *Cercoseptoria* Petr., al quale viene riportato dopo una critica discussione sulla sua posizione sistematica, e chiamato perciò *Cercoseptoria Theae* (Cav.) n. comb.

5. — Non sono state trovate altre forme fruttifere del parassita, oltre quella conidica.

Sulle foglie cadute a terra o mantenute in opportune condizioni di umidità, dai gangli stromatici che costituiscono la base delle fruttificazioni conidiche si evolvono corpi scleroziali globosi con tutta l'apparenza di periteci immaturi.

6. — Nelle inoculazioni artificiali, la malattia viene riprodotta con la sospensione acquosa dei conidi del fungo, con una riuscita massima su circa il 50 °/₀ delle foglie.

Sono state sempre negative le infezioni col micelio sterile, che il fungo sviluppa abbondantemente nelle colture artificiali.

7. — L'azione patogena del parassita viene spesso mascherata da micromiceti che sopraggiungono dopo nelle medesime macchie, e particolarmente dalla *Phomopsis theicola*, la quale nelle inoculazioni artificiali non è mai riuscita a infettare da sola le foglie sane.

8. — Nelle macchie prodotte dalla *Cercoseptoria Theae* specialmente all'apice delle foglie, le inoculazioni di *Phomopsis theicola* riescono facilmente, e la sferioidea si sviluppa rapidamente estendendosi poi anche al lembo sano, superando e mascherando spesso l'infezione primaria.

MARIO CURZI.

Roma — R. Stazione di Patologia Vegetale.
Gennaio 1930-VIII.

LAVORI CITATI.

1. CAVARA F., *Materiaux de Micologie Lombarde*, « Rev. Mycolog. »; n.° 44, 23 pp., 2 tab.. 1889.

2. CURZI M., *Sulla flora micologica delle Marche*, « Atti Ist. Bot. R. Univ. Pavia »; ser. III, vol. II, pp. 49-115 (pag. 102), tav. lit. III, 1925.

3. — *De novis Theae micromycetibus pathogenis.* « Atti Ist. Bot. R. Univer. di Pavia »; ser. III, vol. III, pp. 59-72, tab. lit. II et III, 1926.

4. DELACROIX G., *Maladies des plantes cultivées dans les pays chauds*, p. 428. Paris 1911.

5. FRAGOSO G., Bol. Bot. Real. Soc. Espan. Hist. Nat.; a. 1915, pag. 128.

6. Gadd C. H., *Report of the Mycologist.* « Ann. Rept. Tea Res. Inst. of Ceylon. » ; Bull. 1, pp. 7-15, 1927.

7. — *Report of the Mycologist.* « Ann. Rept. Tea Res. Inst. Ceylon »; Bull. 2, pp. 7-18, 1 pl., 1928.

8. Higgins B. B., *Morphology and life-history of some Ascomycetes withs special reference to the presence and function of spermatia. II.* « Amer. Journ. of Botany » ; v. XVI, 5, pp. 287-296, 1 pl., 1 fig., 1929.

9. Montemartini L., *Intorno all' apice delle foglie degli Eucalipti ed al suo essiccamento.* « Nuovo Giorn. Bot. Ital. » ; N. S., vol. XXXIV, pp. 1200-1210, 1928.

10. Nannizzi A., *Osservazioni critiche intorno alla morfologia ed alla sistematica dell'* « Exosporium palmivorum » *Sacc.* « Accad. Fisiocrit. Siena ». Adun. 16-xii-1927, 1928.

11. Petch T., *Report of the Botanist and Mycologist for the 3 ed quarter 1921.* « Trop. Agric. » ; v. LXII, 5, pp. 318-319, 1921.

12. — *Some diseases of Tea.* « Trop. Agric. » ; v. LIX, 4, pp. 243-249, 1922.

13. Petrak F., *Mycologische Notizen.* « Ann. Mycol. » ; Band XXIII, pp. 1-143 (p. 68), 1925.

14. Speschnew N., *Die Pilzparasiten des Teestranches,* 1907.

15. Stevens F. L. a. Dalbey N. F., *New or noteworthy Porto Rican Fungi.* « Mycologia » ; v. XI, pp. 4-9. pl. 2-3, 1919.

16. Van Breda de Haan J., *Vorläufige Beschreibung von Pilzen bei tropischen Kultur.* « Bull. Ist. Bot. Buitenzorg » ; v. IV, pp. 10-13, 1900.

17. Welles C. G., *Taxonomic studies of the genus* Cercospora *in the Philippine Islands.* « Am. Journ. Bot. » ; v. 12, pp. 195-218, pl. 11-20, 1925.

Sulla posizione sistematica del fungo parassita delle piante di limone affètte da "mal del secco"

Come ho riferito in una precedente nota (1), il micelio che determina la *tracheomicosi* nelle piante di limone affètte dal *mal del secco* in Sicilia forma dei minutissimi picnidi sia sulla superficie delle cicatrici lasciate sui rametti dalla caduta delle foglie, sia sulla superficie di questi ultimi quando non siasi sviluppato il *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. sui tessuti corticali, che impedisce naturalmente l' accrescimento delle ife del fungo lignicolo nella corteccia. I picnidi di questo parassita si presentano, visti con la lente, come corpuscoli rotondi, neri, gregari, di mm. 0,03-0,09 di diametro, del tutto scoperti sulle cicatrici fogliari, dove affiorano gli elementi legnosi dei fasci fibrovascolari, ricoperti totalmente invece dall' epidermide quando si sviluppano sulla superficie dei rametti. Nelle aree dove si formano questi organi sporigeni l' epidermide si solleva alquanto sotto la loro pressione, permettendo la penetrazione di una lamina d' aria fra l' epidermide stessa e il parenchima corticale ed anche fra l' epidermide e i picnidi, per cui queste aree, che si presentano sotto forma di lunghe strisce longitudinali, prendono un color grigio piombo ed i corpi fruttiferi sono visibili solo con la lente per trasparenza attraverso l' epidermide. Questi ultimi si formano in numero straordinariamente grande. Sopra la superficie di 1 $mm.^2$ ne ho contati anche più di 100, per cui sopra una striscia di una lunghezza di 30 cm. e della larghezza di 10 mm. se ne possono trovare circa 300.000 e, calcolando che ogni picnidio produca almeno 5000 spore, in condizioni favorevoli possono essere messe in libertà da un solo germoglio infetto

---

(1) *Batteriosi e mal del secco dei limoni in Sicilia*, « Bollettino R. Stazione Pat. veg. », 1929, n. 3, p. 282.

1 miliardo e 500 milioni di germi! I picnidi sono privi di un poro apicale; alla maturità e per effetto dell' umidità si aprono irregolarmente per la forte pressione esercitata dall' interno sulla loro parete dalla sostanza gelatinosa che risulta dalla gelificazione delle cellule che dapprima riempiono completamente i picnidi. Infatti quando questi sono ancora immaturi, si presentano, in sezione, costituiti allo esterno da uno o due strati di ife fortemente imbrunite strettamente intrecciate fra loro in modo da formare una parete ifenchimatica che si continua nell' interno con uno pseudoparenchima bianco, costituito da cellule di forma irregolarmente tondeggiante, ricche di plasma e di sostanze di riserva. La struttura è simile a quella di uno sclerozio, meno che la consistenza non è mai così dura come nei veri sclerozi o come nei picnidi immaturi delle *sclerophomacee* che presentano una struttura molto affine. Anche nei picnidi del parassita dei limoni manca la formazione di sporofori ben differenziati, disposti in strato regolare sull' excipulo, e le sporule sono formate sulla superficie delle cellule periferiche del pseudoparenchima centrale dopo che si è iniziata una cavità per la gelificazione delle pareti delle cellule del nucleo centrale. Si osservano allora gruppi di cellule sporigene libere in questa cavità. Mentre nelle *sclerophomacee* le sporule sono di origine endogena (1), nel caso in esame sono formate all' esterno delle cellule madri per un processo paragonabile alla gemmazione. Ciascuna cellula può dare origine consecutivamente a numerose sporule. Dopo la sporificazione gli elementi sporigeni si gelificano completamente per cui alla maturità i picnidi risultano costituiti solo dalla parete e dalle innumerevoli sporule che, in mancanza di un ostiolo, vi restano racchiuse per un tempo

(1) Questo carattere dovrebbe essere oggetto di ulteriori ricerche, giacchè quelle esistenti a un tal riguardo non sono ben chiare ed esplicite. Cfr. Diedicke H., *Dothiopsis, Sclerophoma und Sclerotiopsis* « Annales Myc. », IX, 1911, p. 279.

più o meno lungo e cioè sino a quando per effetto della pioggia i picnidi rigonfiandosi sollevano l' epidermide e si aprono. Le sporule sono batteriformi, ialine, di μ 0,8-1,5 × 2,3-4.

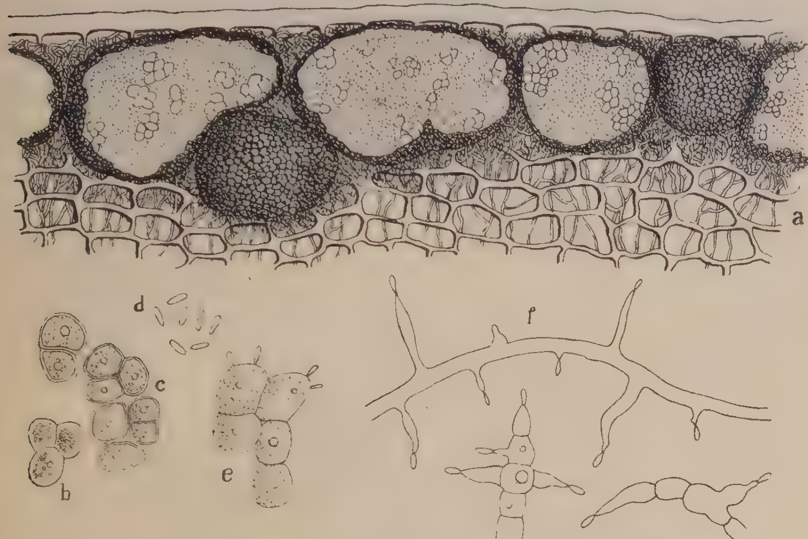


Fig. 1. — *a*, sezione trasversa del parenchima corticale di un rametto di limone con picnidi sottoepidermici di *Deuterophoma tracheiphila*; *b*, cellule giovani dello pseudoparenchima interno di un picnidio $\left(\frac{900}{1}\right)$; *c*, cellule sporigene prossime alla maturità; *d*, picnospore $\left(\frac{900}{1}\right)$; *e*, cellule dello pseudoparenchima sporulanti $\left(\frac{900}{1}\right)$; *f* forma conidica $\left(\frac{850}{1}\right)$.

Lo sferopsideo in questione è riferibile a quelle specie di *Phomacee* che, avendo per carattere fondamentale dei picnidi sprovvisti di sporofori differenziati, sono state descritte ora come appartenenti al gen. *Phoma* (1), inteso in un senso

(1) Fra queste specie sono da comprendersi la *Phoma Richardiae* Mercer, *Ph. acuta* Fuckel e molte altre specie fra le quali probabilmente la *Ph. alternariacearum* Brooks et Searles, *Ph. fumaginoides* Peyr. e diverse specie riferite al gen. *Aposphaeria* o descritte come stato spermogonico o micropicnidico di fumaggini, come quello del *Chaetophoma Citri* Sacc. (Cfr. Arnaud G. « Ann. Ecole Agr. Montpellier », XII, 1912).

assai lato, ora come rappresentanti di generi diversi dal *Phoma*.

Sono del parere che quest' ultimo criterio sia preferibile per condurre ad una definizione meno vasta ed eterogenea del gen. *Phoma*, del quale però occorrerebbe una revisione completa di tutte le specie e di quelle che sono state descritte nei generi affini di vecchia e nuova creazione. In attesa che un simile lavoro venga compiuto, ritengo che il parassita dei limoni possa esser considerato come un genere nuovo, affine alla *Plectophomella* di Moesz (1), da cui si distingue per la mancanza di particolari ife ramificate e persistenti simili a parafisi contenute nell' interno dei picnidi.

Le diagnosi del nuovo genere e della nuova specie sono le seguenti (2):

DEUTEROPHOMA n. gen. — *Pycnidia membranacea, astoma, stromate destituta, intus primum carnoso-cellulosa, deinde sporulis et muco repleta, sporophora nulla. Sporulae hyalinae, minutissimae, bacillares, continuae, e cellulis mucescentibus oriundis.*

DEUTEROPHOMA TRACHEIFILA n. sp. — *Pycnidiis epidermide tectis, gregariis, confluentibus, 30–90* μ. *diam., globosis vel lenticularibus, saepe inaequaliter inter se compressis, nigris: contextu pseudoparenchymatico fusco; sporulis minutissimis,* μ. *0,8-1,5 $\times$ 2,3-4, apice rotundatis, rectis, eguttulatis.*

Status conidicus gen. Acremonium sistit.

Hab. in ligno ramorum et truncorum Citri Limonum, morbo « mal del secco » affecti, in Sicilia.

L. PETRI.

(1) MOESZ von G., *Mycologische Mitteilungen.* V. (« Magyar Botanicai Lapok » XXI, 1922, p. 12, Tav. II).

(2) Una descrizione dettagliata del parassita sarà data nel prossimo fascicolo di questo Bollettino.

La produzione artificiale e la cura della "tracheoalternariosi„ del pomodoro nella Campania

Alla fine del 1927, pubblicammo una nota (1) su di una malattia del pomodoro comparsa in prov. di Salerno. Con le ricerche a suo tempo compiute e corredate da lavori di altri autori, sullo stesso argomento e su affini, venne diagnosticata la malattia, e risultò essere una tracheomicosi, prodotta da una specie del genere *Alternaria*.

Nella chiusa del lavoro citato, si dichiarò che le ricerche sarebbero continuate, allo scopo di mettere in più chiara luce, il meccanismo con cui la malattia si produce, e di suggerire la cura da apportare alle coltivazioni ammalate, tanto richiesta dagli agricoltori ed industriali della regione.

Due anni sono stati necessari affinchè le nostre indagini venissero coronate da un qualche successo. Senza esporre i vari tentativi infruttuosi eseguiti in questo periodo, per cui vennero, fra altro, allevate delle piante anche fuori la stagione ordinaria, descriveremo quelle prove che ci hanno condotto ai risultati attuali.

L'asperità dei tegumenti, nei semi di pomodoro, ci lasciava immaginare dovesse spiegare un' ottima azione adesiva per i conidi del fungo, quindi tutte le prove furono sempre eseguite previa disinfezione dei semi.

La malattia nel campo, come venne detto a suo tempo, invade più o meno intensamente intere coltivazioni, o gruppi di file di piante; mai esse sono attaccate isólatamente, per cui si pensò che le piante venissero attaccate in semenzaio, ove, su più ristretta superfice, era facile avere l'attacco di un grande numero di piante.

---

(1) F. Sansone, *Un avvizzimento del pomodoro in provincia di Salerno e la sua causa*. « Boll. della R. Staz. di Pat. Veg. ». Roma, 1927, n. 4, pp. 465-484, con 4 fig.

Nel corso dell'annata agraria 1928, venne praticata una attenta vigilanza ai campi di pomodoro dei Comuni di Angri, Pagani, Nocera Inferiore, località ove infierisce la malattia.

A varie riprese, vennero prelevate piantine di pomodoro nei semenzai od anche da poco trapiantate, per poterle sottoporre ad attento esame rispetto al fungo invasore. Sebbene riuscisse difficile osservare il micelio nei vasi, perchè in questo momento è estremamente sottile, i tratti di fusto disinfettati e messi in tubi (vedi l. c.), davano quasi costantemente lo sviluppo dell'*Alternaria* coi caratteri già noti. Evidentemente questo fatto ci convinse che l'infezione avviene sino dal primo nascere della pianta: senza escludere però che l'infezione possa avvenire anche più tardi.

La prima prova eseguita, fu quella di infettare i semi germinanti, o per meglio dire la plantula derivante da essi. Dei semi di pomodoro, previamente disinfettati con aldeide formica al 3 °/₀ e lavati con acqua sterile, indi infettati con conidi di *Alternaria* che rimanevano bene aderenti tra le asprezze del seme, furono messi in germinatoio di porcellana porosa, mentre in altro germinatoio di porcellana, furono messi dei semi non infettati. La scatola Petri contenente la coltura dell'*Alternaria* che ci servì per prelevare il fungo, fu pure adoperata come germinatoio di altri semi trattati con aldeide formica.

La germinazione s'iniziò regolarmente nelle tre diverse condizioni, però non si tardò ad osservare che mentre i semi non infettati, messi in germinatoio, si sviluppavano regolarmente, quelli infettati invece, si presentavano con il loro asse imbrunito in punti diversi.

L'imbrunimento che interessava l'intera sezione, si estendeva sempre più verso la radichetta e verso le prime foglioline, ma pervenuto ad una altezza di 4-8 mm., la nascente piantina si abbatteva e moriva. Le piantine sviluppate dai semi non infettati, perdurarono invece oltre il periodo in cui era avvenuto l'esaurimento delle riserve cotiledonari.

Esaminate al microscopio le piantine con l'asse in parte imbrunito, risultò che esse erano molto intensamente invase da micelio, e non tardarono a produrre i caratteristici conidi di *Alternaria*.

Nello stesso tempo si presentò un fatto strano: i semi, messi a germinare nella scatola Petri col terreno nutritivo inquinato dall'*Alternaria*, dettero piantine sanissime e si svilupparono come quelle del primo germinatoio, anzi era da supporre avrebbero avuto uno sviluppo maggiore, se non fossero state disturbate dall'angustia dello spazio.

La ragione di queste diversità, si ritiene essere dovuta alla presenza, nella scatola Petri, del terreno nutritivo di agar-agar all'infuso di pomodoro, quindi sostanza eminentemente organica, che favoriva lo sviluppo del fungo, senza costringerlo ad attaccare le piantine di pomodoro.

A meglio suffragare tale ipotesi, negli stessi germinatoi di porcellana porosa, per non mutare le condizioni, furono messi dei semi, prima disinfettati e poi infettati con conidi di *Alternaria*. Nel fondo del germinatoio però fu disposto uno strato sottile di detriti organici diversi. Anche qui, come nella scatola Petri, i semi germinarono e le piantine si accrebbero normalmente fino al limite possibile, ed anche qui il micelio dell'*Alternaria* preferì diffondersi sulla sostanza organica dei detriti, anzichè attaccare l'asse delle piantine.

Avuta, nel caso già descritto, l'infezione delle plantule, si pensò trapiantarle in vasi preparati a semenzaio. Per il trapianto si scelsero piantine appena infette, cioè ad asse imbrunito per una porzione appena percettibile ed aventi ancora potenzialmente energia di sviluppo; questo per assicurare un certo quantitativo di piantine attecchite.

Parallelamente, furono trapiantate le stesse plantule, e plantule sane, in vasi contenenti sabbia sterile ed immersi per alcuni cm. in una soluzione nutritiva costituita esclusivamente da sali minerali, allo scopo di evitare qualsiasi presenza di sostanza organica. Si pensava che in un terreno che ne fosse ricco ed in relazione di quanto si era

notato nei germinatoi, le piantine avrebbero potuto guarire, e quelle sane avrebbero potuto infettarsi in terreno non controllato, ciò che poi non si verificò.



Fig. 1. — Plantule di pomodoro dopo il trapianto in vaso.
A sinistra piante sane, a destra piante infettate.

La fig. 1, mostra il diverso sviluppo delle piantine nei vasi; le une furono infettate e le altre no, mentre tutte subirono il trapianto descritto precedentemente. Il rachitismo delle prime è solo visibile in quanto sieno confrontate con altre piantine sane, mentre osservate da sole, non avrebbero rilevato nulla di anormale.

In epoca ed in stato di accrescimento opportuni, si trapiantò in quattro grandi vasi uno stesso numero di piantine, prelevandone due delle infette e rachitiche, e due delle sane.

Altre piantine vennero adoperate, sempre col solito metodo, per le prove di coltura in tubo, prove che dettero risultato positivo.

Avute delle piantine ammalate in vaso, ci fu facile seguire l'andamento del malanno, che si presenta con caratteristiche specifiche ben marcate.

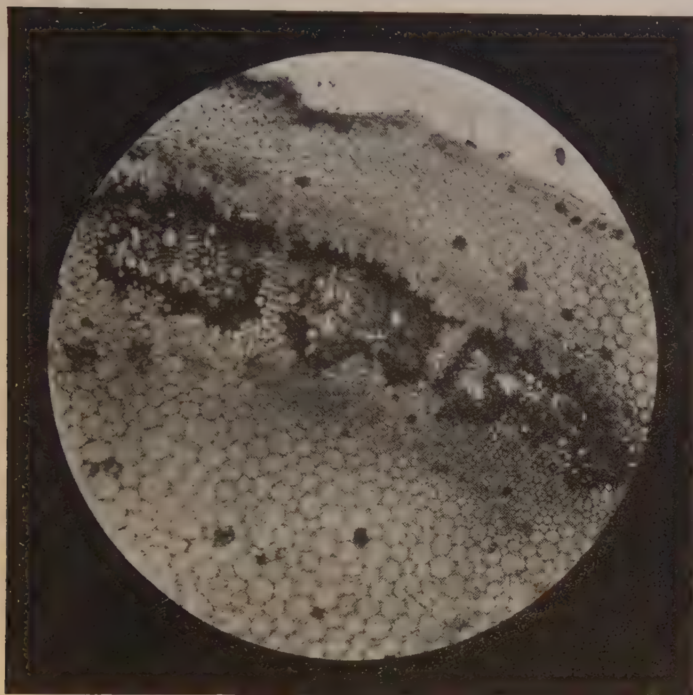


Fig. 2. — Lacune necrotiche in corrispondenza dei fasci fibrovascolari, dovute all'attività del micelio (ingr. 1 : 47).

Come venne descritto nella prima nota citata, le piante, raggiunto un dato sviluppo, incominciarono ad ingiallire e poi a disseccare le foglie prossime al colletto. L'avvizzimento si avanza gradatamente sempre più in alto sull'asse principale, mentre le foglie delle ramificazioni, quantunque anch'esse rachitiche, si mantengono ancora verdeggianti. Nel frattempo, si sviluppano e maturano i primi frutti, nel cui grappolo spesso qualche fiore avvizzisce e dissecca.

Secondo l'intensità dell'attacco e conseguentemente secondo lo stato della pianta, si potrà avere qualche altro grappolo fruttifero con qualche fiore in più che dissecca, rispetto al precedente, e così ancora altri grappoli, fin tanto che tutti gli altri fiori, man mano prodotti, sono destinati

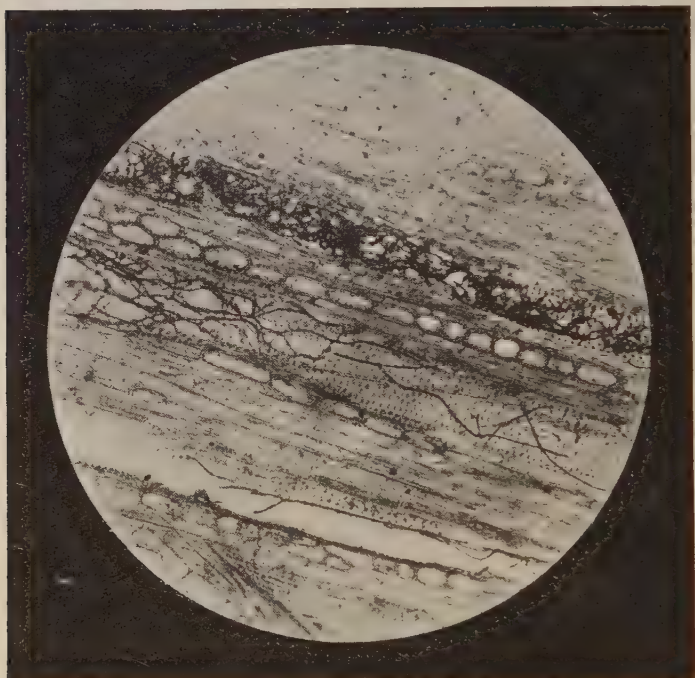


Fig. 3. — Sezione longitudinale del fusto di pomodoro ammalato con trachee invase dal micelio (ingr. 1 : 140).

a morire. Intanto il disseccamento fogliare invade anche le ramificazioni e giunge fino all'apice del fusto; in queste condizioni, verso l'apice si riscontra la maggiore quantità di micelio, che invade intensamente le grosse trachee areolate, le quali incominciano a necrosarsi e disorganizzarsi, fino a formare delle lacune necrotiche in corrispondenza dei fasci (fig. 2).

Dopo questa fase, la pianta si avvia verso la sua inattività totale; il fusto, ad incominciare dall'apice e procedendo verso il colletto, si va disseccando, le ramificazioni avvizziscono anch'esse e la pianta muore. Le fig. 3 e 4 mostrano sezioni longitudinali di pianta fortemente ammalata, descritta precedentemente, nelle cui trachee areolate, serpeggia abbondantemente il micelio del fungo parassita.

Allestiti i soliti tubi sterili con tratti di fusto di pomodoro, si ebbe lo sviluppo dei tipici cespi fungini dell'*Alternaria*.

Fu sperimentata l'infezione anche in pieno campo, dopo il trapianto. Perciò piccoli pezzi di patate su cui s'era accresciuta l'*Alternaria*, furono messi in vicinanza dei fittoni di alcune piante da infettare, dell'altezza di 40-50 cm.

Dopo circa un mese i primi sintomi della malattia incominciarono a manifestarsi: le foglie basali avvizzirono, qualche grappolo fiorale disseccò, le piante portarono a maturazione pochi frutti e di poi morirono.

Questo fatto dimostra chiaramente che l'infezione può avvenire anche in pieno campo; però le nostre prove si allontanano alquanto dalla realtà, poichè il materiale infettante, fu impiegato in quantità così forte, che non è possibile si verifichi altrettanto in natura.

*
* *

Ci è venuto fatto di riscontrare, durante queste seconde ricerche sulla tracheoalternariosi del pomodoro, un lavoro del Pasquale (1) nel quale si parla dell'invasione di un micelio entro i vasi areolati del pomodoro, determinante una malattia che per il suo carattere epidemico fu dall'autore chiamata « malattia dominante ».

---

(1) G. A. Pasquale, *Sui canali areolati del pomodoro* (Licopersicum esculentum) *presi dalla malattia dominante.* « R. Acc. Scienze Fisiche e Matematiche », fasc. 10, ottobre 1870.

Egli si sofferma a descrivere le modificazioni di struttura e di forme che il micelio determina sulle areole dei vasi attraversati dal micelio stesso. Inoltre accenna al fatto che i pomodori a frutti piccoli (Fiaschetta) non vanno soggetti a detta malattia; quasi come se le varietà a piccoli frutti, avessero nella loro compagine organica le fibre ed i vasi più piccoli, e quindi i pori areolati meno grandi e perciò meno propri al passaggio dell'endofita. Ma l'autore esprime questa ipotesi come una possibilità atta a spiegare la causa della quasi immunità dei pomodori a piccoli frutti.

Tenendo presente tali ricerche del Pasquale, furono fatte ulteriori osservazioni per stabilire se la malattia dominante, d'allora, avesse qualche cosa di comune con l'attuale tracheoalternariosi. Nelle piante ammalate, e propriamente in quelle all'inizio dell'avvizzimento fogliare, o anche con ramificazioni parzialmente ammalate, abbiamo potuto notare, a mezzo di sezioni longitudinali, la presenza di quel micelio sottilissimo tracheifilo descritto dal Pasquale e capace di determinare alcune modificazioni nelle areole dei vasi. In un primo tempo non avevamo interpretato come un micelio i sottilissimi filamenti del Pasquale, quantunque nella prima nota di questo argomento si fosse dichiarato che alcune volte il micelio non si mostra tanto facilmente, e che spesso esso termina in sottili propaggini.

Per questa uguaglianza di caratteri possiamo ritenere che l'antica « malattia dominante » del pomodoro non sia altro che l' attuale « schima » (Tracheoalternariosi), per quanto sussista qualche dubbio, mancando in Pasquale qualunque indicazione relativa alla determinazione dell'entità fungina, e così qualsiasi descrizione dei sintomi della malattia.

*
* *

Il micelio, dapprima sottilissimo, con l'intensificarsi della gravità del male sulla stessa pianta, diventa abbastanza grosso, non perdendo le attitudini già descritte dal Pasquale, anzi rendendole più evidenti.

In seguito a numerose osservazioni microscopiche, ci sembra però che il micelio non prenda contatto con le areole al solo fine di diffondersi nei vasi vicini. Si possono notare dei filamenti che pur essendo in contatto di numerose



Fig. 4. — Come alla fig. 3 ma ingrandimento maggiore (1 : 240).

areole, non si vedono per questo passare nelle cellule contigue, ed altri che allungandosi a zig-zag, entro la cavità del vaso, sembrano piuttosto appoggiarsi alle areole, vicino alle quali il micelio si mostra molto evidentemente ingrossato (fig. 4). Sembrerebbe quindi che le areole permettano al micelio di sviluppare la sua attitudine rampicante, trovando nelle areole altrettanti fulcri meccanici, piuttosto che riuscire vantaggiose ad una sua diffusione trasversale.

L'endofita, sebbene si sviluppi di preferenza nei vasi più grandi, non lascia immuni i più piccoli; quindi è da esclu-

dere l'ipotesi del Pasquale, volendola applicare nel nostro caso, che cioè il fungo non riesca ad attaccare varietà a piccoli elementi. L'immunità di alcune razze, è da ricercare piuttosto in altre cause, tuttora oscure.

Le piante già ammalate, almeno allo stato delle nostre conoscenze, non si possono curare; esse sono destinate a produrre quel poco di prodotto ed a morire.

Qualche agricoltore, danneggiato dalla malattia, cercava inutilmente combatterla con le irrorazioni di poltiglia bordolese, la quale certamente non poteva giungere al micelio ben custodito nelle trachee. La malattia bisogna quindi prevenirla, e sino dal semenzaio e dal trapianto.

I residui delle coltivazioni ammalate, bisogna raccoglierli accuratamente e distruggerli al fuoco. Abbiamo visto come tratti di fusto, in condizioni opportune, possano dar luogo allo sviluppo di cespi fungini fruttificanti, i cui conidi si dissemineranno dando una maggiore diffusione al fungo ed accrescendo il quantitativo dei germi.

Si raccomanda, in tutti i casi la disinfezione dei semi con poltiglia bordolese all'1 %, per 10-15 minuti primi, agitandoli continuamente. Inoltre, la disinfezione dei semenzai con calce viva e la loro rinnovazione di anno in anno.

Nei terreni fortemente infetti, alternare la coltura con quelle di altre specie vegetali immuni.

Scegliere e coltivare le varietà resistenti, preferendo le precoci alle tardive. A questo proposito, abbiamo visto come il Pasquale per la « malattia dominante » del pomodoro, aveva notato, nella così detta Fiaschetta, una varietà resistente.

Diversi studiosi americani si sono occupati della malattia del pomodoro detta « Summer bligt » (seccume estivo), prodotta dal *Fusarium Lycopersici* che si riscontra molto comune negli Stati Uniti del Sud ed in California.

Secondo Smith (1), il detto *Fusarium* vive nel terreno,

---

(1) Smith R. E., *Tomato diseases in California*, « California Agric. Exper. Stat. », Boll. 175, 1906.

ove si moltiplica e si propaga, attacca le radici del pomodoro, entra nei tessuti vascolari ed impedendo la circolazione dell'acqua, provoca un avvizzimento graduale e rapido e quindi la morte della pianta. Il danno talora è del 100 % del prodotto e sono attaccate specialmente quelle razze che maturano nel tardo estate.

L'Essary (1), fin dal 1912 aveva notato per l'avvizzimento da *Fusarium*, una certa resistenza in alcune varietà, anzi anche in individui di varietà soggette. I semi di questi ultimi diedero delle piante resistenti, in campi completamente infetti e distrutti dal male in annate precedenti.

Il Pritchard (2), ha esperimentato il comportamento di diverse varietà di pomodoro rispetto all'infezione del *Fusarium Lycopersici*. Secondo l'autore, sono risultate più resistenti le varietà: Marvel, Arlington, Columbia, Norton, Marvana, Marvelosa, Marglobe; meno resistenti: Trophy, Mansfield e Comet; attaccatissime: Martehless, Stone, Enormous, Perfection, Earliana e specialmente: Bonny, Best, John Baer, Beauty.

Le varietà più resistenti all'avvizzimento da *Fusarium*, hanno dimostrato anche un buon grado di resistenza alle altre malattie, quali il seccume dovuto a *Septoria Lycopersici*, il seccume primaverile ecc.

In vista della possibilità di avere delle varietà resistenti, come nella malattia del pomodoro descritta dagli autori nord-americani, richiamiamo l'attenzione degli agricoltori e degli industriali della Campania, affinchè rivolgano la loro attenzione e la loro attività principalmente in questa fortunata direttiva, pur non trascurando i mezzi profilattici più sopra suggeriti.

---

(1) Essary S. H., *Notes on tomato diseases with results of selection resistence.* « Tennessee Agric. Exper. Station », Boll. 95, 1912.

(2) Pritchard F. J., *Tomato wilt and varietal resistence.* « Seed World », v. XVII, 1925.

*
* *

Piante di peperone ammalate, pervenute a questo Laboratorio nel decorso anno, dalla Sezione di Cattedra Ambulante di Agricoltura di Ariano di Puglia (Avellino), alle quali abbiamo applicato gli stessi metodi di indagine espletati pel pomodoro, si sono mostrate affette anch'esse da una tracheomicosi, prodotta egualmente da specie del genere *Alternaria*.

Dott. Fr. Sansone.

Laboratorio di Patologia vegetale
del R. Istituto Superiore Agrario
di Portici.

Influenza di substrati nutritivi esposti ai raggi ultravioletti sopra lo sviluppo dei funghi

È noto che diverse sostanze alimentari, come il latte, i grassi, la colesterina, ecc., acquistano, se esposte alle radiazioni ultraviolette, delle proprietà terapeutiche e nutritive particolari indicate sopratutto nella cura del rachitismo, dell'osteomalacia e malattie simili. Il fatto trova una spiegazione nel ricostituirsi, sotto l'influenza dei raggi ultravioletti, delle vitamine, che erano state distrutte dall'ebollizione o da altri trattamenti subìti comunemente da molte sostanze alimentari.

È possibile oggi riprodurre artificialmente le proprietà antirachitiche dell'olio di fegato di merluzzo, che si devono principalmente al suo contenuto di vitamina *D*, irradiando coi raggi ultravioletti l'ergosterina, che fra tante sostanze si è dimostrata eminentemente attivabile al massimo grado (da 1000 a 2000 volte più della colesterina), tanto che sono sufficienti dosi infinitesimali per produrre lo stesso effetto

curativo che può ottenersi dall'olio di fegato di merluzzo somministrato in grandi e ripetute dosi.

Questi fatti, che sono stati ormai sicuramente accertati, dimostrano come l'energia radiante possa essere assorbita da alcuni composti organici e restituita sotto una forma che si estrinseca con un' azione catalitica sui processi di assimilazione di determinati elementi nutritivi costituitivi dei tessuti. È da domandarsi se queste nozioni siano applicabili allo studio delle cause di alcuni casi di degenerazione e di morte che spesso si osservano nelle colture artificiali di microrganismi parassiti, specialmente funghi, i quali nei substrati nutritivi ordinariamente preparati nei nostri laboratori non trovano alcuna vitamina attiva, giacchè con la sterilizzazione esse vengono distrutte. Molte colture di funghi parassiti, che in natura vivono a spese di tessuti viventi o da poco uccisi dalle loro stesse secrezioni o dai prodotti del loro metabolismo, mostrano segni evidenti di sofferenza e di degenerazione ed anche il graduale estinguersi di ogni loro attività vitale quando siano coltivati per lungo tempo sempre sopra un substrato sintetico della stessa composizione e tanto più, nel caso di un substrato organico naturale, se questo è sterilizzato ad alta temperatura (120° C.).

La *Blepharospora cambivora,* coltivata sopra agar-agar al decotto di carote degenera assai rapidamente dopo pochi trapianti effettuati sempre su questo substrato quando sia stato sterilizzato nell' autoclave, degenera meno rapidamente se l'agar è sterilizzato a bagno-maria. La degenerazione si manifesta con una diminuzione progressiva del vigore di accrescimento del micelio sino a che i trapianti restano del tutto sterili. Un esaltamento della vitalità del fungo si ottiene coltivandolo su carote sterilizzate frazionatamente a 80° C., mentre su carote sterilizzate a 120° C. si manifesta di nuovo il processo degenerativo. Esponendo alle radiazioni ultraviolette di una lampada a vapori di mercurio le carote sterilizzate a 120° C. e contenute in tubi di quarzo, si ottiene su queste uno sviluppo vigo-

roso della *Blepharospora*. Lo stesso risultato si osserva su latte bollito ed irradiato in confronto a latte semplicemente bollito. Anche la *Deuterophoma tracheifila*, il parassita delle piante di limone descritto in una nota precedente, sul latte irradiato presenta uno sviluppo sensibilmente maggiore che sul latte bollito.

Mi limito a segnalare i risultati di queste ricerche preliminari per richiamare l'attenzione degli studiosi della biologia dei microrganismi parassiti sopra un argomento che può presentare un certo interesse e che merita forse di esser fatto oggetto di indagini numerose ed accurate.

L. PETRI.

NOTIZIE VARIE

Osservazioni sulla coltura del castagno giapponese in Italia.

Sulla fine del 1928 furono inviate da questa R. Stazione al Comando di Coorte della Milizia Nazionale Forestale di Cuneo alcune migliaia di piantine di *Castanea crenata* ottenute dalla semina fatta nella primavera di quell'anno stesso.

La piantagione a dimora venne eseguita in due appezzamenti di terreno appositamente preparati, uno dei quali in località *Alma* di Frabosa Sottana (Mondovì) ed un altro in località *Podio* di Demonte (Cuneo).

Alla distanza di un anno il Comandante la Coorte suddetta, Dott. N. Ferrari, mi ha comunicato le seguenti osservazioni che hanno un gran valore pratico, per lo meno per quanto riguarda la coltura del castagno giapponese nelle regioni con clima e terreno simili a quelli dei dintorni di Cuneo e di Mondovì dove le piantagioni sono state fatte.

1. — Le piantine si sono dimostrate molto sensibili ai concimi sia organici che chimici. Al *Podio* si usò stallatico nella misura di 2 kg. per piantina, all'*Alma* si usò perfosfato minerale nella misura di kg. 200 per piantina.

Il concime chimico fu sparso dopo eseguita la piantagione, a 10 centimetri in giro dal piccolo fusticino, il letame si sparse invece alcun tempo avanti la piantagione. Dove non si concimò il risultato fu questo: molto ritardo nella ripresa della vegeta-

zione in primavera, sviluppo minore, ed in qualche zona fallanze anche abbastanza gravi.

2. — Le piantine si sono dimostrate molto delicate circa l'interramento; sono assolutamente insofferenti di interramento al disopra di 2 cm. dal colletto.

Le piantine troppo interrate o hanno seccato il fusticino rigettando dal ceppo interrato, o sono morte.

3. — Si sono mostrate sensibili alla protezione dall'alto delle matricine di castagno nostrale o da cespugli od anche dai semplici getti di ceppaie di castagno nostrale, tanto da ritenere che la piantagione in piena terra senza protezione alcuna non sia da consigliarsi.

4. — Sono molto sensibili all' esposizione di levante quando siavi pericolo di gelate tardive.

5. — Malgrado l'autunno avanzato e la spogliazione già iniziata dei castagni nostrali, le foglie della specie giapponese sono tutt'ora verdi e resistenti e alcune piante sono in fioritura.

6. — Sono molto ramificate e specie lo sviluppo apicale manca, essendo che sono tre o quattro rametti talora che si contendono lo sviluppo, in modo tale da consigliare per questa primavera una giudiziosa potatura per favorire lo sviluppo del getto apicale più robusto.

7. — L'impianto ha sortito felice esito sia nella zona preparata a buchette (*Alma*) sia in quella preparata a piccole striscie (*Podio*).

8. — La piantagione eseguita d'autunno ha dato migliori risultati di quella eseguita in primavera. In autunno le piantine sopportano bene la messa a dimora anche quando sono tutt' ora in vegetazione.

Alcune piantine, già messe a dimora e già in vegetazione a primavera, morirono rapidamente presentando un leggero rigonfiamento sulla zona del colletto. L'esame microscopico ha rivelato nei vasi del legno un micelio riferibile al gen. *Acremonium*. Anche il midollo era fortemente attaccato. Non sono stati trovati i caratteri di una vera e propria *tracheomicosi*, nè è stata riscontrata alcuna traccia di parassiti animali. Molto probabilmente le piantine erano state danneggiate dai forti freddi verificatisi nell'inverno 1928-29 o da quelli tardivi primaverili. Sino ad ora non si è mai manifestata in Italia alcuna malattia parassitaria veramente grave del castagno giapponese e gl'insuccessi si devono o a difetti dell'impianto o agli effetti del clima e del terreno.

L. Petri.

INDICE DELL'ANNATA

Lavori originali.

Articoli, Relazioni e Riviste sintetiche.

Recensioni e Necrologi.

Notizie varie.

Indice alfabetico degli Autori.

Altre pubblicazioni del personale della R. Stazione di Patologia vegetale nell'anno 1929.

Petri L., Direttore della R. Stazione di Patologia vegetale:
Comportamento dell' olivo sotto l' influenza delle radiazioni dell'uranio e della ionizzazione dell'aria. « Rend. R. Acc. Lincei, cl. Sc. fis. mat. e nat. », ser. VI, vol. IX, pagg. 188-189; Roma 1929.
Alterazione del fusto dei papiri prodotta da protozoi. « Rend. R. Acc. Lincei, cl. Sc. fis. mat. e nat. », ser. VI, vol. IX, pagg. 701-702; Roma 1929.

Sibilia C., Assistente:
Contributo alla Flora micologica del territorio di Anagni. « Annali di Botanica », vol. XVIII, f. 2.°, pagg. 253-300; Roma 1929.
Sulla nuova legge per la difesa delle piante coltivate e dei prodotti agrari dalle cause nemiche e sui relativi servizi. « La Nuova Agricoltura », anno II, n. 1. Roma 1929.
Le patate da semina importate in Italia. « La Nuova Agricoltura », anno II, n. 3. Roma 1929.

Prof. Lionello Petri, *Direttore responsabile*